

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**



**TESIS**

**IDENTIFICACIÓN DE INDIVIDUOS SOBRESALIENTES EN GRUPOS  
CONTEMPORÁNEOS DE LA RAZA SIMMENTAL Y SIMBRAH**

**PRESENTA**

**MVZ. ALBERTO ÁLVAREZ BARAJAS**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL  
GRADO DE MAESTRÍA EN CIENCIA ANIMAL**

**DICIEMBRE, 2013**



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN**  
**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**



**TESIS**

**IDENTIFICACIÓN DE INDIVIDUOS SOBRESALIENTES EN  
GRUPOS CONTEMPORÁNEOS DE LA RAZA SIMMENTAL Y  
SIMBRAH**

**QUE PRESENTA**

**MVZ. ALBERTO ÁLVAREZ BARAJAS**

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL  
GRADO DE MAESTRÍA EN CIENCIA ANIMAL**

**ESCOBEDO, NUEVO LEÓN, MÉXICO,**

**DICIEMBRE 2013**



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN  
FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA



IDENTIFICACIÓN DE INDIVIDUOS SOBRESALIENTES EN GRUPOS  
CONTEMPORÁNEOS DE LA RAZA SIMMENTAL Y SIMBRAH

Aprobación de tesis por el comité particular de

MVZ. Alberto Álvarez Barajas

Dr. Rogelio Alejandro Ledezma Torres

Director de Tesis

MC. Gustavo Moreno Degollado

Co- Director

Dr. Emilio Olivares Saenz

Co- Director

Dr. Fernando Sánchez Dávila

Co-Director

Dra. Rocío Ortiz López

Co- Director Externo

ESCOBEDO, N.L., MÉXICO

DICIEMBRE 2013

## **AGRADECIMIENTOS**

Al CONACYT por brindarme los recursos necesarios para mi manutención.

A la Asociación Mexicana de Criadores de Ganado Simmental y Simbrah por permitirme integrarme a la gran familia que se, y por utilizar la información de sus agremiados e inventario ganadero.

Al IA. José Manuel Medina Chapa y al CP. Jorge Cantú Balderrama Líderes de la AMCGSS, la verdadera raza de doble propósito.

Al Laboratorio Central de Diagnóstico de la Unión Ganadera Regional de Nuevo León por procesar las muestras.

Al Ing. Adrián de la Garza Tijerina por las gestiones realizadas a favor de esta investigación.

Al INIFAP, específicamente al Dr. Montaña por sus observaciones y apoyo.

## **DEDICATORIA**

A mi **Familia** (Ramón, Laura, Ramsés y Abraham) que gracias a su paciencia en el proceso de ser un mejor hijo, hermano, amigo y socio. Me siento un hombre pleno, decidido y bien orientado para encontrar la manera de superarme cada momento. A ellos que me han acompañado a cada momento y en mis decisiones importantes y me enseñaron a través de su ejemplo como coincidir y fortalecer en armonía el núcleo familiar.

A Ericka, Sofía y Sara que forman parte de mis descansos y alegrías

Al M.C. Gustavo, Dr. Rogelio, Ing. José, Dr. Emilio y Dra. Roció por integrarme a su equipo de trabajo, orientarme en mis aprendizajes y ser un verdadero soporte en esta aventura.

Al Ing. Hugo Cavazos que con unas cuantas palabras y gestos siempre ha sabido apoyarme en mis proyectos.

Al Dr. José Antonio Salinas por animarme a seguir en mi preparación profesional.

Al Lic. Guillermo Zambrano, por su tiempo y apoyo.

A Marina Ruiz por los proyectos que hemos compartido, la comunicación y equipo que hemos conformado.

A ti que me lees, por creer en mí y en mi equipo.

A ustedes el campo fértil en mi vida, donde ha nacido y crecido una amistad, aquí está el fruto de sus atenciones, más está por llegar.

## **ABREVIATURAS**

<b>AMCGSS</b>	<b>Asociación Mexicana de Criadores de Ganado Simmental Simbrah</b>
<b>ADN</b>	<b>Acido desoxirribonucleico</b>
<b>AOL</b>	<b>Área del Ojo del Lomo</b>
<b>BTA</b>	<b>Bos Taurus Autosomal</b>
<b>CE</b>	<b>Circunferencia Escrotal</b>
<b>CC</b>	<b>Calidad de la Canal</b>
<b>DEP</b>	<b>Diferencia Esperada de la Progenie</b>
<b>ERT</b>	<b>Economical Relevant Trait (rasgo de relevancia económica)</b>
<b>F</b>	<b>Fenotipo</b>
<b>GC</b>	<b>Grupos Contemporáneos</b>
<b>GCA</b>	<b>Grasa de la Cadera</b>
<b>GD</b>	<b>Grasa Dorsal</b>
<b>GI</b>	<b>Grasa Intramuscular</b>
<b>MAS</b>	<b>Marker Asisted Selection (Selección asistida por marcadores)</b>
<b>MM</b>	<b>Marcadores Moleculares</b>
<b>PN</b>	<b>Peso al Nacimiento</b>
<b>PD</b>	<b>Peso al Destete</b>
<b>PA</b>	<b>Peso al Año</b>
<b>QTL's</b>	<b>Quantitative trait loci (Loci para rasgo cuantitativo)</b>
<b>SNP</b>	<b>Single Nucleotide Polimorfism (polimorfismo de un solo nucleótido)</b>
<b>URT</b>	<b>Ultrasound Real Time (Ultrasonido en tiempo real)</b>
<b>VP</b>	<b>Valores Productivos</b>

## ÍNDICE

Contenido	Página
<b>1. RESUMEN.....</b>	<b>1</b>
<b>2. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>2</b>
2.1. Objetivos.....	3
2.2. Hipótesis.....	3
2.3. Justificación.....	3
<b>3. REVISIÓN DE LITERATURA.....</b>	<b>4</b>
3.1. Actividad Ganadera en México.....	4
3.1.1. Características de importancia económica.....	4
3.2. Selección Fenotípica.....	5
3.2.1. Métodos tradicionales de selección de ganado bovino.....	5
3.2.2. Genética cuantitativa.....	6
3.2.2.1. Diferencia esperada de la progenie.....	7
3.2.2.2. Grupos contemporáneos.....	8
3.3. Imágenes colectadas por medio de Ultrasonido.....	9
3.4. Aplicaciones de Biología molecular.....	9
3.4.1. Microarreglos y d-PCR.....	11
3.4.2. Detección de Fluorescencia y discriminación alélica.....	12
3.4.3. Genética Molecular.....	13
3.4.4. Marcadores genéticos.....	14
3.4.4.1. Marcadores SNP.....	15
3.4.5. Selección asistida por marcadores (MAS).....	16
3.4.6. Marcadores SNP relacionados con ERT.....	17
<b>4. MATERIALES Y MÉTODOS.....</b>	<b>20</b>
4.1. Lugar del estudio.....	20
4.2. Animales experimentales, mantenimiento y alimentación.....	20
4.2.1. Formación de grupos contemporáneos.....	20
4.3. Datos zoométricos y muestreo de sangre.....	20
4.3.1. Colección de imágenes de ultrasonido.....	21
4.3.2. Aislamiento de ADN a partir de sangre completa.....	21
4.4. Amplificación de fragmentos génicos a través de d-PCR en 16 SNP's..	23
4.4.1. Condiciones y parámetros para la amplificación por medio de PCR	23

4.4.2. Discriminación alélica y Detección de Fluorescencia.....	25
4.4.3. Análisis e interpretación de los datos.....	26
4.5. Análisis Estadístico.....	26
5. RESULTADOS.....	28
5.1. GHR (Receptor de Hormona del Crecimiento).....	29
5.2. GHRH (Hormona Liberadora de Hormona del Crecimiento).....	30
5.3. NPY (Neuro Peptido Y).....	31
5.4. UCP 2 y 3 (Proteína desacopladoras).....	32
5.5. DGAT (Diacilglicerol Transferasa).....	33
5.6. LEP (Leptina).....	33
5.7. TG (Tiroglobulina).....	33
5.8. CAPN (Calpaina).....	34
5.9. CAST (Calpastatina).....	34
6. DISCUSIÓN.....	35
6.1. Gen GHR (Receptor de la Hormona del Crecimiento).....	35
6.2. Gen GHRH (Hormona Liberadora de Hormona del Crecimiento).....	36
6.3. Gen NPY (Neuro Peptido Y).....	36
6.4. Gen UCP (Proteína desacopladora).....	37
6.5. Gen DGAT (Diacilglicerol Transferasa).....	38
6.6. Gen LEP (Leptina).....	39
6.7. Gen TG (Tiroglobulina).....	39
6.8. Gen CAPN (Calpaina).....	40
6.9. Gen CAST (Calpastatina).....	41
7. CONCLUSIONES.....	42
8. LITERATURA CITADA.....	43



## Índice de tablas

<b>Tabla</b>	<b>Título</b>	<b>Página</b>
1.	Secuencias de Marcadores Moleculares y sus fluoroforos VIC-FAM.....	23
2.	Componentes de la reacción de d-PCR.....	23
3.	Temperaturas y tiempos de duración de ciclos para la PCR el chip.....	25
4.	Marcadores moleculares, sus genotipos y codificación numérica.....	26
5.	Descripción de ERT medidas, sus medias y desviación estándar.....	28
6.	Frecuencia alélica de los SNP's en la población estudiada (n=222).....	29
7.	Asociaciones en SNP's GHR con ERT; significancia y prueba de DMS....	29
8.	Asociaciones en SNP GHRH con ERT; significancia y prueba de DMS....	30
9.	Asociaciones en SNP's NPY con ERT; significancia y prueba de DMS....	31
10.	Asociaciones en SNP's UCP2 y UCP3 con ERT; significancia y DMS.....	32
11.	Asociaciones en SNP DAGT con ERT; significancia y DMS.....	33
12.	Asociaciones en SNP LEP con ERT; significancia y DMS.....	33
13.	Asociaciones en SNP TG con ERT; significancia y DMS.....	34

## **Índice de Figuras**

<b>Figura</b>	<b>Título</b>	<b>Página</b>
1.	Diagrama de flujo para extracción de ADN genómico.	22
2.	Cambios de temperatura y tiempos (minutos) por ciclo en PCR.	25

## 1. RESUMEN

El objetivo de este estudio fue identificar las mutaciones asociadas a características de interés económicas por medio de un análisis de sus valores productivos, diferencias esperadas de la progenie (DEP) y marcadores moleculares (MM). Se utilizaron 222 animales de 5 ganaderías en 2 estados de la República Mexicana, formando grupos contemporáneos (GC). Se tomaron medidas de peso al nacimiento (PN), peso al destete (PD), peso al año (PA), así como circunferencia escrotal (CE) y talla corporal (TC). Se recabaron imágenes de ultrasonido del área del ojo del lomo (AOL), porcentaje de grasa intramuscular (%GI), marmoleo (Marm), grasa dorsal (GD) y grasa de la cadera (GCA). Un total de 16 MM fueron propuestos para locus en genes de distintos cromosomas autosomales bovinos (BTA) relacionados con características de calidad de la canal (CC), crecimiento y contenido grasa en canal, incluidos: Receptor de Hormona del crecimiento (GHR), Hormona liberadora de hormona del crecimiento (GHRH), Neuro péptido Y (NPY), Proteína des-acopladora (UCP), Diacilglicerol transferasa (DGAT), Tiroglobulina (TG), Leptina (LEP), Calpaina (CAPN) y Calpastatina (CAST). Se obtuvieron muestras de sangre para detectar la presencia de los MM y sus alelos, por medio de apareamiento de sondas fluoroforas, excitación de los fluoroforos y discriminación alélica.

El apareamiento de sondas fluoroforas y discriminación alélica indican que los marcadores moleculares para cada gen propuesto (GHR, GHRH, NPY, UCP, DGAT, TG, LEP, CAPN y CAST) se encuentran en la población estudiada, así mismo el modelo estadístico señala asociación significativa con mediciones de interés productivo incluidas: PN, Paj205, %GI, Marm, GD, GCA, DEP PN, DEP PDD y DEP PA.

Los resultados de esta investigación señalan que los genes y sus loci, se encuentran ( $P < 0.05$ ) en las poblaciones Simmental y Simbrah estudiadas. Además, existe una asociación ( $P < 0.05$ ) en distintas características de crecimiento, calidad de la canal y diferencias esperadas de la progenie (DEP's) con genes y su(s) loci en el genoma.

**Palabras Clave:** Marcadores moleculares, SNP, DEP, GEN, características de importancia productiva.

## 2. INTRODUCCIÓN

La biodiversidad de las especies domesticadas es vital para los programas de mejoramiento y para el estudio de la biología molecular del fenotipo, genotipo, sus correlaciones y adaptación (Georges, 2006; Andersson and Georges, 2004). En la actualidad los métodos para la selección de ganado bovino de valor genético sobresaliente están basados en fenotipo (F), genealogía, valores productivos (VP), diferencias esperadas de la progenie (DEP's) y recientemente en marcadores moleculares (MM) o genotipo (G) de manera independiente; sin embargo, la correlación de distintos tipos de selección representa una herramienta valiosa para determinar la heredabilidad de rasgos de importancia económica (ERT) de la descendencia de animales superiores. Por su tamaño y uniformidad en el ADN, los loci microsatélite y polimorfismos de longitud, específicamente los polimorfismos de un solo nucleótido (SNP's) (Primrose and Twyman, 2006) son utilizados para caracterizar los loci de rasgos que controlan varios caracteres fenotípicos (Karp, 2006; Andersson, 2001). Siendo la meta principal el mapeo de genes y sus polimorfismos relacionados con metabolismo, reparto de la energía, rasgos difíciles de medir (permanencia productiva y resistencia a enfermedades) y genes con relación antagónica, los cuales son de importancia económica (Sherman et al., 2008). El avance genético se cumple con la selección de candidatos basada en DEP's, de ERT (Newman, 2011) que se fundamentan en el análisis de características de crecimiento, reproductivas y de calidad de la canal (Domínguez-Viveros, 2010). La superioridad o inferioridad de un animal para un rasgo estará afectada por el ambiente. Entonces las evaluaciones genéticas deben conducirse en grupos contemporáneos (BIF, 2010). Los DEP's reflejan el mérito genético del total de los genes del individuo, mientras que las pruebas en MM solo para los loci analizados. Los candidatos para una prueba basada en ADN son aquellos que tengan un alto impacto en el hato y/o en la raza, pues estas pruebas son solo una de tantas fuentes de información en la cual se basa la selección para el mejoramiento genético, nunca para rechazar o aceptar a un reproductor (Thallman, 2004). En México se han publicado evaluaciones genéticas donde incluyen los DEP's para: peso al nacimiento, peso al destete directo, peso al destete materno, peso al destete materno total, peso al año, circunferencia escrotal, Talla corporal y Permanencia Productiva (Ríos-Utrera, 2010). Según el VIII censo nacional agropecuario 2007, se tienen censados 5,705,857 vientres para producción de carne y doble propósito (INEGI, 2007).

## **2.1. Objetivos**

**2.1.1.** Obtener, ajustar y analizar los valores productivos (VP) [(peso al nacimiento (PN), peso al destete (PD), peso al año (PA), circunferencia escrotal (CE), talla corporal (TC)], medición de área del ojo del lomo (AOL), % grasa intramuscular (%GI), grasa dorsal (GD) y grasa de la cadera (GCA) en grupos contemporáneos (GC) de la raza Simmental (SM) y Simbrah (Sb).

**2.1.2.** Detectar por medio de excitación de sondas fluoróforas y discriminación alélica la presencia de mutaciones genéticas por medio Microarreglo con marcadores moleculares (MM) para los genes propuestos (GHR, GHRH, NPY, UCP, DGAT, TG, LEP, CAPN y CAST); que afectan características de crecimiento, calidad de la canal y deposición grasa.

**2.1.3.** Asociar por medio de un método estadístico los valores de las características de interés: fenotípicas (F), VP, diferencias esperadas de la progenie (DEP's) con MM en el genoma de los individuos sobresalientes de la raza SM y Sb.

## **2.2. Hipótesis**

Con la obtención y análisis de valores cuantificables y su correlación con heredabilidad de rasgos de importancia económica (ERT), se podrá estimar cuales son los animales superiores dentro de la población estudiada.

## **2.3. Justificación**

Identificación de los individuos con genética sobresaliente, evaluada y adaptada de la Población Nacional de las razas SM y Sb, para su aprovechamiento en el territorio Mexicano, a través de tecnologías de reproducción asistida.

### **3. REVISIÓN DE LITERATURA**

#### **3.1. Actividad Ganadera en México**

La ganadería de Bovinos en México se considera una actividad importante desde el punto de vista de consumo interno así como para exportación; pues utiliza más de la mitad del territorio del país para su ejercicio (INEGI, 2007) cerca de 196 millones de hectáreas, además de realizar exportaciones a Estados Unidos de Norte América por cerca de 1 millón de cabezas de ganado bovino (vaquillas y becerros) anualmente en promedio de 1989 a 2010 (Peel et al., 2011). Según la definición de la Organización mundial para la Alimentación y la Agricultura (por sus siglas en inglés, FAO) determina 3 tipos principales de Sistema de producción ganadera: Sistema Industrializado, Sistema Mixto y Sistema basado en pastoreo extensivo (FAO, 1996). Para los cuales se toman en cuenta como factores que afectan de manera importante la producción: edad, genética, estado sanitario y alimentación. Se han realizado grandes esfuerzos para mejorar la producción y calidad cárnica a través de razas puras y combinación de estos factores de importancia en razas sintéticas (FAO, 2007). El desarrollo del hato bovino en México, a través de la biotecnología y evaluaciones genéticas, ha sido promovido como una necesidad, con el objetivo de satisfacer las necesidades de rentabilidad, productividad, competitividad, equidad y sostenibilidad que demandan un mundo globalizado (Parra-Bracamonte et al., 2011) lo que dio origen a finales de los años 90's a Consejo Nacional de los Recursos Genéticos Pecuarios (CONARGEN) el cual funge como coordinador de los esfuerzos para el mejoramiento genético a nivel federal (Ganadero, 2010). El ganado bovino de la raza Simmental o sus cruza han tenido gran aceptación entre los productores mexicanos dada que su calidad de carne es bien recibida tanto por el mercado local como el internacional, además presenta la gran ventaja de adaptarse a un rango amplio de condiciones ambientales (Rosales-Alday et al., 2004).

##### **3.1.1. Características de importancia económica**

Los rasgos de primera importancia o rasgos de importancia económica (ERT) para el ganado de carne: la tasa de crecimiento, conversión de alimento, consumo de alimento y % de carne magra, habiendo también rasgos secundarios o indirectos como fertilidad, longevidad y facilidad de parto que se pueden considerar como rasgos funcionales de mayor impacto en la eficiencia; existen además rasgos de interés en producto final, la canal (marmoleo y suavidad) que están directamente relacionados a la eficiencia económica y la

demanda de los mercados (FAO, 2007). Los rasgos de interés se deberán identificar claramente y además jerarquizar su impacto económico en el hato, esto facilitara los criterios de selección y su organización lógica (Garrick and Golden, 2009; Kluyts et al., 2003). La toma de decisiones para la administración y el mejoramiento genético, se fundamenta en la calidad y cantidad de información que se genera en los registros del control de producción (Domínguez-Viveros, 2010). Según Garrick et al. (2011) hay una tendencia a la selección del ganado orientada a individuos con desarrollo temprano y mejoría en el área del ojo del lomo, marmoleo de cortes finales y otras características como las organolépticas, suavidad del corte; de estas últimas no hay suficiente información fenotípica recabada para razas puras, por la falta de métodos costeables y confiables. El principal objetivo de la selección de los animales domésticos, a lo largo de los años, ha sido moldear el genoma y su expresión en características productivas de los para adaptarse a las necesidades del hombre (Georges, 2006), según la tendencia observada por Garrick y Golden (2009) la selección del ganado bovino seria aquella enfocada a producir carne nutritiva, saludable y deseable además de ser generada respetando los recursos naturales, ambientales, de bienestar de los animales y asegurando una ganancia a los distintos eslabones de la cadena productiva.

### **3.2. Selección Fenotípica**

#### **3.2.1. Métodos tradicionales de selección de ganado bovino**

En el enfoque clásico de los programas de mejoramiento genético la selección se basa en los fenotipos observables (de los candidatos para mejoramiento y/o sus emparentados), pedigrí y certificado de registro, datos de características productivas, pero sin el conocimiento de que genes están siendo seleccionados (Hirwa et al., 2011; Medina-Chapa, 2010; Williams et al., 2009). Tal es el caso de la selección de vacas enanas (Marlowe, 1964), de la selección sobre color para la resistencia al calor (Finch, 1986), selección sobre cornamenta (Warwick, 1958) entre otros. Actualmente los datos genealógicos son requeridos en los programas de mejoramiento del ganado o para la prevención de su extinción resultado de la perdida de la variación genética (FAO, 2007). La selección por rasgos fenotípicos o apreciación visual (Av) es uno de los métodos de selección más antiguos, se apegan a los estándares raciales. Sin embargo demostraron ser insuficientes para determinar el mérito individual del animal (Knapp et al., 1939), por lo tanto al inicio de los años 40 se desarrollaron métodos para la evaluación del desempeño productivo del ganado (Knapp et al., 1942). El efecto de la selección en base pruebas de crecimiento,

tamaño, fertilidad, longevidad y condición corporal se ha investigado a través de experimentos publicados en Animal Breeding abstracts desde 1938 (Scholtz et al., 1990).

### **3.2.2. Genética cuantitativa**

La aplicación de los métodos estadísticos para la explicación de la heredabilidad fue revisada por Galton, Pearson y otros contemporáneos (Warwick, 1958). La teoría de la genética cuantitativa está estrechamente relacionada con la variación alélica de los genes en distintos loci a lo largo de cromosomas apareados, los cuales pueden expresar efectos genéticos promedio, dominantes y epistáticos, además combinado con efectos ambientales aleatorios que afectaran cualquier medición fenotípica en poblaciones humana y agropecuaria (Barton and Keightley, 2002; Dickerson and Willham, 1983). La ingeniería genética se encarga de los cambios producidos en características de los animales que influyen directamente en su desarrollo y funcionalidad actuando de manera conjunta en su biología y buena condición económica durante todo su ciclo de vida en los sistemas de producción animal (Dickerson and Willham, 1983). El mejoramiento genético resulta de la selección de candidatos por encima del promedio como padres de la siguiente generación, el éxito de la selección se verá reflejada en la correcta jerarquización de los candidatos para las distintas características de interés productivo y económico (Garrick, 2011). Sin embargo la colección y posterior análisis de la información estará limitada por la tecnología disponible al momento del experimento para desarrollar las pruebas complementarias de rasgos difíciles de medir (Garrick and Golden, 2009). La selección cuantitativa es una herramienta importante para el mejoramiento del ganado a través de la predicción del comportamiento de las crías en caso de ser elegidos como futuros reproductores, no obstante una información completa acerca de una cría debe incluir predicciones sobre el efecto de la raza elegida, heterosis y efectos aditivos para los rasgos de importancia económica en los distintos ambientes de producción a lo largo del país (MacNeil, 2009; Smith and Banos, 1991). La heredabilidad indica el porcentaje de la variabilidad total entre animales para una característica en particular, que se debe a diferencias genéticas transmisibles, el progreso genético ( $R$ ) a través de selección, depende del diferencial de selección ( $S$ ), heredabilidad de la característica ( $h^2$ ) y el intervalo generacional ( $t$ ) (Ríos-Utrera, 2010). Los primeros métodos para la predicción de fenotipos y genotipos plantea el uso de familiares, ya que por lo general presentan fenotipos y genotipos similares entre sí, sin embargo esto no consideraba efectos a lo largo del tiempo ni entre hatos (Lush, 1947a; Harris and Newman, 1994), por lo tanto en los años 50' se



propusieron modelos relativos a cruzas entre familia con el método de medios hermanos y hermanos completos (Lush, 1947b; Osborne, 1957) este tipo de experimentos fueron propuestos para tratar de predecir los fenotipos de los animales domésticos (Harris and Newman, 1994), las que desembocaron en las primeras ecuaciones de modelo mixto para estimación de efectos fijos y predicción de efectos genéticos aleatorios (mencionado en Dickerson and Willham, 1983). Searle (1964), Henderson (1963, 1966, 1973), Harris (1966), Wilton et al. (1968), Wilton y Van Vleck (1968, 1969) y Quaas (1976) en distintos experimentos continuaron con ajustes y modificaciones a las ecuaciones lineales y cuadráticas para obtener las diferencias esperadas de la progenie (DEP), del mismo modo se expresó la importancia de obtener estimados precisos de los parámetros genéticos para maximizar la respuesta a la selección de la característica deseada (mencionado en Harris and Newman, 1994).

### **3.2.2.1. Diferencia esperada de la progenie**

Los DEP's se refieren a la diferencia esperada en el comportamiento productivo, reproductivo o de temperamento de un individuo, comparada con la expresión de este rasgo esperado en algún momento dado para una población, y son obtenidos directamente del individuo o de sus emparentados. Los DEP de mayor interés productivo son aquellos para: Peso al nacimiento, Peso al destete, Peso al año, Circunferencia escrotal, Talla corporal, Medición de Marmoleo por ultrasonido y distribución grasa en la canal (BIF, 2010). En las primeras pruebas de progenie se consideró 8 crías por semental para dar una evidencia razonable acerca de las diferencias genéticas aditivas entre toros reproductores (Knapp et al., 1942). Sin embargo las pruebas de progenie específicamente aquellas con gran cantidad de crías, se consideran más exactas que pruebas para individuos o pocos individuos (Dickerson and Hazel, 1944). El análisis de los datos de desempeño requieren factores de corrección o ajustes para tomar en cuenta las diferencias entre raza, sexo, temporada de nacimiento, edad de la madre y tipo de dieta, además de su ajuste a grupos contemporáneos para el bloqueo del factor de ambiente (BIF, 2010; MacNeil, 2009). La industria ha utilizado estos indicadores de características productivas, en lugar mediciones directas de los rasgos de interés por su costo o dificultad para ser medidos (Pollak and Kirschten, 2002). Este tipo de información productiva se almacena en bases de datos mantenidas por las asociaciones criadoras de las distintas razas puras, dado que históricamente han recabado la información genealógica por muchas décadas (Garrrick and Golden, 2009). Los DEP's, son valores que se obtienen a partir del análisis de los valores

de las mediciones de características productivas o rasgos fenotípicos en evaluaciones nacionales (BIF, 2010; Garrick, 2011; Medina-Chapa, 2010), por medio del método de mejor predicción lineal sin sesgo (BLUP) (Harris et al., 1989) y se comparan con la población total del ganado registrado en la bases de datos de una asociación ganadera, esto por medio de un procedimiento multirracial y análisis univariado utilizando el programa MTDFREML (por sus siglas en ingles Múltiple Trial Derivate Free Restricted Maximum Likelihood) para la jerarquización de la población (Zhang et al., 2006). El gobierno mexicano planteo la necesidad de un programa nacional de mejoramiento genético a través de evaluaciones genéticas nacionales (SAGAR, 1998). En la raza de interés para este estudio se cumple por medio de publicación de sumarios semestrales para la razas Simmental y Simbrah para las distintas características productivas a partir de datos tomados por los productores de ganado de razas puras y sintéticas, lo cual requiere de la estimación de los parámetros genéticos de las características productivas en una población (Montaño-Bermúdez, 2010). Para evaluar el impacto es necesario conocer las tendencias genéticas por medio del cálculo de varianzas y covarianzas genéticas aditivas directas y maternas, la heredabilidad, correlaciones y tendencias de las distintas características de interés económico a través de los DEP, estas estimaciones se deben incluir en el control de producción en función de los criterios de selección de cada raza y las demandas del mercado (Domínguez-Viveros, 2010; Rosales-Alday et al., 2004). El concepto de avance genético se cumple a través de la selección de candidatos reproductores basándose en los índices compuestos por los DEP's de los rasgos económicamente importantes (ERT por sus siglas en inglés); esto equilibrado con los costos económicos. Los objetivos de crianza toman cuenta los rasgos estrechamente asociados con el ingreso y el gasto, lo anterior para lograr la meta de hacer más competitivos a los productores nacionales e internacionales (Newman, 2011).

#### **3.2.2.2. Grupos contemporáneos**

Los grupos contemporáneos son aquellos formados por individuos de la misma composición racial, hato, sexo, temporada, el rango de edades similares y en condiciones de ambiente similares; el objetivo principal es darle a cada individuo la capacidad igual para desarrollar su potencial. Este método es básico para desarrollar las evaluaciones genéticas de bovinos de carne debido a que la superioridad o inferioridad de un animal en un rasgo no siempre está dado solo por el factor genético, sino que mucho se debe también al factor ambiental (BIF, 2010).

### **3.3. Imágenes colectadas por medio de Ultrasonido**

La industria ha usado el ultrasonido en tiempo real para medir características de la canal en ganado para sacrificio (Houghton and Turlington, 1992; Pollak and Kirschten, 2002) y para ganado de razas puras, algunas mediciones de importancia son: % de grasa intramuscular, área del ojo de la costilla, grosor de grasa dorsal; la característica de suavidad se refleja a través de la característica de marmoleo (Garrrick, 2011; Herring and Bertrand, 2002). Wild (1950) reportó por primera vez el uso del ultrasonido como un método no invasivo, no destructivo, humano y que además proporciona medias para cuantificación de musculo y tejidos grasos en animales vivos.

El procedimiento para la utilización del ultrasonido incluye empleo de aceite mineral o vegetal (como medio de contacto) en el área del cuerpo a ser medida, seguido del posicionamiento del transductor en dicha área para obtener la imagen requerida, tomando en cuenta puntos de referencia anatómicos bien definidos. El principio del ultrasonido descansa en la medición del eco rebotando a partir de su choque con los tejidos objetivo, este sonido es convertido en una imagen reflejada en la pantalla. Dadas las propiedades del sonido el transductor de 3.5 MHz es más apropiado para locaciones profundas (por ejemplo área del ojo del lomo), mientras que el de 5.0 MHz es preferible para ubicaciones de tejidos cercanos a la superficie del cuerpo (por ejemplo grasa dorsal) (Houghton and Turlington, 1992; Tait et al., 2005). Aunque los resultados de interpretación pueden variar por efectos tales como el operador, instrumentos, color de la capa, largo del pelaje, ubicación de referencias anatómicas, el peso y nivel de grasa del animal (Waldner et al., 1992); las correlaciones genéticas son elevadas y positivas entre medidas asociadas a la canal y ultrasonido en vivo para bovinos (grasa 0.45 a 0.96; m. Longissimus 0.20 a 0.94; Marmoleo 0.20 a 0.91) (Houghton and Turlington, 1992). Por lo tanto la selección para DEP's en cuanto a medidas de ultrasonido in vivo deberán resultar en una respuesta correlacionada y confirmada al momento del sacrificio y obtención de canales de progenie de reproductores medidos (Pollak and Kirschten, 2002).

### **3.4. Aplicaciones de Biología molecular**

En el siglo XX se reveló la estructura y parte de la función de la molécula del ADN como responsable de la evolución genética. Gracias a los experimentos científicos desarrollados por Griffith en los años 20's, Beadle y Tatum en los 30's, Avery en los 40's, Chargraff, Franklin, por separado, y el equipo de Watson y Crick en los 50's; se dio a conocer la estructura, organización, los procesos de replicación, transcripción y traducción del ADN,

ejes del dogma central. La estructura reportada por Watson y Crick describe una doble hélice, dos cadenas de ADN unidas entre sí por enlaces de hidrogeno, entre las pares de bases en la cadena opuesta. Además un patrón de unión entre la base purina-adenina y la pirimidina-tiamina y del mismo modo la base purina-guanina con la pirimidina-citosina. Como resultado tienen una relación de complementariedad y cualquier cadena de ADN define a su complementaria (Brandenberg et al., 2011; Watson, 2008). Para reproducirse una célula debe copiar y transmitir su información genética hacia toda su progenie. Por tal motivo la molécula de ADN debe desarrollar el proceso de replicación semi-conservativa, en la cual cada cadena de la molécula original actúa como plantilla para la síntesis de la cadena nueva de ADN. La doble hélice original es primero separada por enzimas especializadas, al mismo tiempo a través de otras enzimas acarrea bases libres para su unión a la cadena hija siguiendo las reglas de complementariedad; de este proceso se obtienen dos cadenas de ADN de la original, son idénticas entre sí, las dos hijas y la paterna. Cambios aleatorios en la secuencia de ADN inducidos por error en la replicación y otros factores extrínsecos son conocidos como mutaciones, las cuales pueden ser funcionales o letales (Brandenberg et al., 2011). El ADN llamado intergénico es aquel que no codifica ni para ARN estructural ni para proteínas, existiendo dos tipos: el no repetitivo y el repetitivo. Cerca de un cuarto del ADN intergénico (intrones) es no repetitivo, además de contener genes mutantes, fragmentos de genes y pseudogenes. Los pseudogenes existen gracias a la acción de la transcriptasa reversa, enzima que copia ARN en una doble hélice de ADN. La complejidad genética es proporcional al contenido de ADN no repetitivo y no al tamaño del genoma; a mayor complejidad menor densidad génica (Watson, 2008). El incremento en la complejidad del genoma se da por la organización de intrones y exones en el ADN. El gen puede ser definido como la unidad heredable de variación fenotípica y desde un punto de vista molecular, como la secuencia lineal requerida para producir moléculas de RNA funcional, o una unidad transcriptora sencilla (Brandenberg et al., 2011). En los genes relacionados con la evolución los exones son similares en tamaño aun y cuando los genes por sí mismo difieran en largo. Esto significa que los intrones pueden estar en la misma posición pero ser de diferente tamaño. Algunos genes aparentan ser mosaicos que fueron contruidos por parches de copias de exones individuales extraídos de diferentes genes, a este fenómeno se le conoce como reestructuración de exones (Primrose and Twyman, 2006). Un gen por lo general ocupa una posición definida en un cromosoma, secuencias específicas que tienen efecto y función en la morfología y fisiología del

individuo, el cual puede mutar o recombinarse con otros genes. A cada presentación de un gen se le llama alelo (Brandenberg et al., 2011).

### **3.4.1. Microarreglos y d-PCR**

Una técnica utilizada para estudiar los ácidos nucleicos es la hibridación (Moody, 2001; Pradervand et al., 2010) existiendo tres tipos de arreglos; el primero que sintetiza pequeños oligonucleótidos sobre una lámina de vidrio; el segundo, microarreglos de oligonucleótidos conocidos también como chips de genoma, los cuales contienen cientos o miles de oligonucleótidos de 25 bases, fijados a un soporte sólido sintetizados in situ y coloreados con cromóforos. Cada uno de los genes es presentado ante 15 o más oligonucleótidos ADN y ARN marcando los fragmentos antes de su hibridación. El cálculo cuantitativo de la abundancia de la transcripción puede obtenerse directamente a través de un promedio de todas las sondas a lo largo de un gen; el tercero, microarreglos de ADN, se basan en el uso de moléculas de doble cadena de ADN que se han sometido a PCR. Estas corresponden a cada secuencia genómica de cADN que han sido depositadas sobre una lámina de vidrio, usualmente conteniendo una sonda por gen, los datos generados en este tipo de análisis muestran una concentración relativa por una transcripción cuando se comparan dos condiciones experimentales. Las muestras de dos corridas son marcadas con diferentes colorantes y el conjunto también para observar la hibridación competitiva (Castagnino, 2006). Para poder elegir las librerías de cADN necesarias para la construcción de un microarreglo es útil seleccionar las sondas más representativas para el tipo de experimento a diseñar, se recomienda centrar el experimento en un grupo pequeño de genes seleccionados en base a un propósito específico, tal es el caso de clasificación funcional y cambios en expresión de genes entre otros. Una vez seleccionados los clones, se preparan para un proceso de PCR en longitudes de no más de 500 bases dependiendo de los clones elegidos, los productos de PCR luego son fijados en una laminilla de vidrio (Moody, 2001), las copias cADN pueden ser coloreadas con terminaciones fluorescentes Cy3 y Cy5 (Walsh, 2004). El microarreglo es considerado una de las más completas herramientas para la alta entrega de resultados (tecnologías de próxima generación) en el análisis de genoma completo y su expresión en el ganado (Sellner et al., 2007). La d-PCR fue propuesta en su origen para el análisis de mutaciones somáticas en moléculas de ADN (Vogelstein and Kinzler., 1999) y basa su funcionamiento en la técnica llamada dilución limitante, la cual diluye la muestra hasta obtener muy pequeña cantidad de moléculas diana que serán alicuotadas en pequeñas cámaras de reacción, de las cuales muchas estarán vacías, pero

otras solo contendrán una sola molécula de templado, de acuerdo a la distribución Poisson (Bhat et al., 2009; Kubista and Stahlberg, 2011; Shen et al., 2010; Mikeska et al., 2010), su exactitud se fundamenta en que estando presente la secuencia diana esta será amplificada proporcionando un resultado positivo o negativo proporcionando un código binario de ahí el término PCR digital. La selección de la plataforma de análisis depende del presupuesto, fin diagnóstico particular y costo de los reactivos, presentándose arreglos de 96, 384 y 1526 micro compartimentos, además de otras plataformas microfluidicas (con varios miles de reacciones individuales) de alta entrega de resultados, son adaptables a la robótica y métodos estadísticos modernos (McCaughan and Dear, 2010). La plataforma más conveniente hasta el momento es la ofrecida por OpenArray de Life Technologies, pues ofrece un plato metálico del tamaño de una laminilla para microscopio en la cual existen 3072 cámaras de reacción individuales con capacidad de 33nL de muestra. Su organización en 48 sub arreglos con 64 cámaras cada uno (8 x 8), ofrece la flexibilidad para cargar a una resolución solicitada y además de ser conveniente para diluciones seriales inicialmente realizadas para conocer el óptimo de la concentración de la muestra a cargar (Kubista and Stahlberg, 2011). Esta técnica ha sido ampliamente utilizada para la detección y estimación de frecuencia de variaciones en un solo nucleótido (nativo vs. mutado) y discriminación alélica en secuencias diana por separado en microarreglos con muestras múltiples, por medio del conteo de los compartimentos con resultado positivo en la molécula objetivo (Bhat et al., 2009; McCaughan and Dear, 2010). Contrastando con la PCR estándar, un proceso que es menos sensible y menos preciso (McCaughan and Dear, 2010; Mikeska et al., 2010).

### **3.4.2. Detección de Fluorescencia y discriminación alélica**

La discriminación de secuencias entre las de interés y las de tipo salvaje es aumentada en la PCR digital dado que la muestra se separa en un gran número de micro-contenedores en la laminilla (Kubista and Stahlberg, 2011; Shen et al., 2010), lo que reduce el nivel de fluorescencia de fondo de secuencias relacionadas. Gracias a sus micro-cámaras donde se aloja una sola molécula templado y el proceso de amplificación clonal de esta molécula eliminan la competencia por los reactivos y las lecturas cruzadas, además de aumentar la multiplicidad, sensibilidad y exactitud (Kubista and Stahlberg, 2011). Las estrategias de detección de amplicones incluyen la tinción estándar de ácidos nucleicos (como SYBR-green). Con respecto a la detección de variantes poco comunes, se diseñan sondas moleculares marcadas con fluorescencia para la discriminación de nativos y mutantes

(Vogelstein and Kinzler, 1999). El templado TaqMan para PCR tiene la ventaja de brindar una señal de fluorescencia proporcional al número de moléculas que son amplificadas en una muestra, este método trabaja por la adición de un oligonucleótido doblemente marcado en una reacción de PCR por una polimerasa con actividad 5' a 3' exonucleasa, la prueba debe ser complementaria a uno de los dos productos para que se encuentren y puedan hibridar, separando de la sonda las dos marcas y por lo tanto activando la fluorescencia a través de la actividad exonucleasa (Heid et al., 1996; White et al., 2009) El análisis digital de SNP's ha sido desarrollado para la amplificación de templados sencillos a partir de un grupo de muestras de ADN, para generar amplicones que son homogéneos en secuencia y tamaño. Diferentes fluoróforos se aplican como sondas para detectar y discriminar diferentes alelos (paternal vs maternal o tipo salvaje vs mutante) (Chang and Shih, 2004; Shen et al., 2010). De este modo el análisis digital de SNP's transforman las señales análogas exponenciales de la PCR a lineales digitales. Dentro de las ventajas tenemos: 1) el análisis estadístico de productos de PCR pueden ser directamente analizados por software estadístico, 2) esta tecnología está diseñada para generar productos de PCR del mismo tamaño, por lo tanto el problema de la degradación de ADN queda excluido, 3) los análisis digitales de SNP utilizan una pequeña cantidad de ADN, que puede estar disponible en muestras clínicas (Chang and Shih, 2004).

### **3.4.3. Genética Molecular**

La información basada en datos moleculares ha mantenido la promesa de mejorar la predicción en ganado joven, primero por la utilización de marcadores fenotípicos, segundo apoyándose en marcadores microsatélite y más reciente mente con mayor capacidad de análisis de información los polimorfismos de un solo nucleótido (por sus siglas en inglés, SNP) (Garrick, 2011). Al inicio de la década de los noventa y finales de los ochenta, los primeros trabajos publicados para el análisis de ADN empleaban las técnicas de los RFLP y Southern blot. Sin embargo, los trabajos basados en ADN comienzan a popularizarse a partir de la implementación de la técnica de PCR ) (por sus siglas en inglés reacción en cadena de la polimerasa) (mencionado en Mullis et al., 1990), con lo anterior los términos antes conocidos solamente por teoría se volvieron realidad, tales como loci de características o rasgos cuantitativas (Quantitative Trait Loci o QTL's), QTN's (Quantitative Trait Nucleotides), detección de mutaciones causantes de caracteres cuantitativos y MAS (Marker Assisted Selection) entre otros tantos (Giovambattista et al., 2010). Luego de la secuenciación genómica y el descubrimiento de millones de SNP

(Matukumalli et al., 2009), las técnicas convencionales de análisis de material génico han sufrido en la última década una modificación sustancial por el uso de instrumentación miniaturizada, siendo las principales ventajas: la reproductibilidad de datos obtenidos, corto tiempo empleado en el análisis, mínima cantidad de muestra utilizada, mejoría en la automatización e integración con la tecnología de microfluidos (por ejemplo d-PCR) y la incorporación comercial de la instrumentación disponible para el análisis de muestras biológicas, tal es el caso de los microarreglos y microchips. Las habilidades predictivas del comportamiento genético han sido desveladas a partir del estudio las variaciones secuenciales y las interacciones entre genes conocidos, así como la identificación de genes desconocidos (Castagnino, 2006). El objetivo común en el campo del progreso genético en una población se define como el mejoramiento de los recursos genéticos y por lo tanto del fenotipo resultante. El progreso genético puede estar influido por una variedad de factores como la precisión para elegir a los candidatos a reproductores, la variación genética aditiva entre la población, la intensidad de selección (por ejemplo; la proporción de la población que será seleccionada para futura crianza) y el intervalo generacional. Estos factores pueden ser influenciados a través de la biotecnología moderna (Brandenberg et al., 2011). La información genotípica de un individuo en un programa de mejoramiento es de especial interés pues puede ser tomada de ambos sexos, desde temprana edad, en todos los animales y probablemente permita la toma de menos información fenotípica (Dekkers, 2005).

#### **3.4.4. Marcadores genéticos**

La posición de los genes de función similar está estrechamente ligada (Hill and Robertson, 1966). Los marcadores fenotípicos tales como los grupos sanguíneos fueron asociados a regiones cromosómicas responsables de la variabilidad en algunos rasgos de interés productivo (Hansen et al., 1967), sin embargo la cantidad de características ligadas a este tipo de marcadores son limitadas (Garrick, 2011). Un Marcador genético es definido como una secuencia de ADN ligada a una característica fenotípica en particular, en términos de proximidad espacial de secuencia y por lo tanto se segrega en un patrón idéntico y predecible como la característica, este marcador puede incluir el gen que es responsable del rasgo o parte de él, o secuencias de ADN que están suficientemente cerca del gen o genes y por lo tanto asegurar su co-segregación (Brandenberg et al., 2011). Los marcadores microsatélite proporcionaron la información necesaria para encontrar genes o secuencias de ADN que están asociadas con ciertas características productivas (fenotípica) o también llamados loci para rasgos cuantitativos (QTL's) (Brandenberg et al., 2011; Georges et al.,



1995). Este tipo de marcadores pueden tener muchos alelos en cada locus pudiendo ser informativos en gran parte de la población además de bien distribuidos a lo largo del genoma, sin embargo su genotipado por medio de microsatélite es costoso y en muchos de los casos los resultados de los estudios carecen de capacidad para caracterizar regiones a detalle, detectando solo regiones de gran efecto (Baruch and Weller et al., 2009), pocas regiones QTL fueron de utilidad para rasgos de importancia económica (Dekkers, 2004). El conocimiento de los loci cuantitativos para rasgos y los genes que influyen en estas regiones son de utilidad para la selección de candidatos a reproductores o para iniciar ingeniería genética de la característica en cuestión (Brandenberg et al., 2011).

#### **3.4.4.1. Marcadores SNP**

El tipo más común de variabilidad genética se observa en sitios del genoma donde existen diferencias en un solo nucleótido entre miembros independientes de una población, son también conocidos como polimorfismos de un solo nucleótido (SNP por sus siglas en inglés) (Thallman, 2004). Los segmentos de SNP se han retenido juntos en el genoma en muchas generaciones debido a la recombinación genética que no ocurre de manera aleatoria a lo largo del ADN, existen regiones específicas en las que la recombinación sucede de manera frecuente y se intercambian bloques de ADN. Otros puntos específicos que tienen una baja frecuencia de recombinación se mantienen hasta cierto punto intactos, pues se heredan de generación en generación. A estas regiones o bloques se les conoce como haplotipos, los cuales están definidos por un número pequeño de SNP en esta región del genoma (Primrose and Twyman, 2006; Watson, 2008). Los SNP bovinos fueron propuestos luego de su descubrimiento al secuenciar el genoma a partir de la línea 1 Hereford (L1 Dominette 01449) (MacNeil, 2009), presentan la ventaja de poder ser multiplicados para bajar su costo y aumentar su eficiencia en el genotipado. Los estudios moleculares de este tipo se basan en paneles o arreglos de SNP existiendo los de alta densidad y baja densidad (Garrick, 2011). La meta principal de la investigación genómica en animales de granja es mapear y caracterizar los loci de rasgos que controlan varios caracteres fenotípicos (Andersson, 2001). Uno de los usos de la PCR, específicamente la d-PCR (Vogelstein and Kinzler, 1999), es la amplificación de cadenas de interés, además permite el apareamiento de sondas fluorocromicas; para posteriormente someterlo a discriminación alélica. Por este medio se realiza la identificación de polimorfismos de un solo nucleótido los cuales se encuentran distribuidos a lo largo del ADN mostrando diferentes patrones de heredabilidad mendeliana que prácticamente se pueden estudiar en

todas las especies de ganado (Brandenberg et al., 2011; Giovambattista et al., 2010). Avances en la genética molecular han resultado en la identificación de genes o marcadores asociados con genes que afectan los rasgos de importancia económica en ganado lechero y de producción cárnica (Hirwa et al., 2011). La industria cárnica ha enfocado los SNP para un arreglo de marcadores predeterminados para ser informativos para un grupo predeterminado de características que tienen la mayor relevancia económica y oportunidades en el mercado (Garrick, 2011).

#### **3.4.5. Selección asistida por marcadores (MAS)**

La selección asistida por marcadores (MAS) es como se le conoce al proceso de selección para una característica en particular utilizando marcadores moleculares. Los marcadores genéticos facilitan el “marcaje” de genes individuales o pequeños segmentos de cromosoma conteniendo genes que influyen en el rasgo de interés (QTL’s). Existe una variedad marcadores genéticos disponibles para esta técnica, sin embargo los que presentan mayor ventaja son los marcadores directos (Dekkers, 2004) pues aun cuando son marcadores directos y presentan alta confiabilidad, hay que tomar en cuenta que la mutación puede estar presente en el alelo favorable y aun así no presentar el efecto en el fenotipo (Lohuis, 2003). La disponibilidad de grandes cantidades de este tipo de marcadores y su poca especificidad por raza, lo que sugiere que se segregan ampliamente en ganado taurino, ha resultado en la detección de genes que afectan de manera mayor los loci para rasgos cuantitativos, aun para los de baja heredabilidad, aquellos que son difíciles de medir fenotípicamente y los que se comportan de manera antagonista (Dekkers, 2004; Thallman, 2004; White et al., 2007). La técnica de selección asistida por marcadores puede acelerar la tasa de progreso genético en la crianza aumentando la precisión de la selección y reduciendo el intervalo generacional. La identificación de marcadores y su uso deben mejorar a futuros prospectos para los programas de crianza para las características productivas y de eficiencia. Sin embargo, se sabe que las características son poligenicas (controladas por varios genes) y que el comportamiento de los genes que controlan un rasgo son dependientes de su configuración genética (Brandenberg et al., 2011) se deberán evitar las selecciones basadas en un solo gen, dada la poca disponibilidad de pruebas de ADN para una población: En cambio se recomienda hacer una selección basada en EPD tomando en cuenta los alelos favorables para cierta característica (Thallman, 2004).

### **3.4.6. Marcadores SNP relacionados con rasgos de importancia económica (ERT)**

Distintos genes han sido propuestos de acuerdo a la función fisiológica que tienen sus productos tales como hormonas, péptidos, proteínas y receptores. A continuación se ofrece una revisión por gen propuesto para el presente estudio.

El gen GHR ubicado en el BTA 20 compuesto por 10 exones y 9 intrones (Garret et al., 2008), codifica a la GHR, una proteína unida a la hormona del crecimiento (GH) resultando en la activación del sistema hormonal en la promoción del crecimiento y distribución de la grasa (Chagas et al., 2007; Etherton, 2004) pre y post natal (Bauer et al., 1998; Gluckman et al., 1997) así como rasgos reproductivos (Luna-Nevarez et al., 2011; Chagas et al., 2007).

El gen GHRH, se encuentra en el BTA 13, el cual codifica a GHRH hormona hipotalámica reguladora de síntesis y liberación de GH (mencionado en Scarborough et al., 1988; Cheong et al., 2006; Lin-Su and Wajnrajch, 2002), caracterizada por el estímulo de crecimiento esquelético muscular y visceral, tiene también una función metabólica y de repartición energética en tejido adiposo y movilización de grasas (De Graaff et al., 2003). El aumento de GHRH natural y sus análogos en la circulación sanguínea mejora la retención de nitrógeno (N), aumentos de peso, y producción láctea además se asocia a rasgos cuantitativos importantes como: calidad de la canal y crecimiento en bovinos (mencionado en Scarborough et al., 1988; Cheong et al., 2006), grasa dorsal y ganancia diaria de peso en porcinos (Franco et al., 2005), y a polimorfismos de GH.

El gen NPY ubicado en el BTA 04 codifica a nuro péptido Y que desarrolla el papel principal como estimulante del apetito (Bahar and Sweeney, 2008) y es importante para el consumo de alimento y el control del balance de energía y por lo tanto asociado a peso corporal, apetito, deposición grasa y otros rasgos de crecimiento en humanos y ganado en distintos tejidos (Zhang et al., 2011; Bahar and Sweeney, 2008).

Los genes UCP2 y UCP3 ubicados en el BTA 15 codifican para proteínas desacopladoras (UCP, por sus siglas en inglés) expresadas en distintos tejidos, en el caso de UCP2, tejido adiposo, musculo esquelético y del sistema inmune desarrollando un papel principal en la eficiencia de producción de ATP /ADP además influencia en la secreción de insulina y resistencia a la obesidad. Por otra parte el UCP3 se secreta específicamente en musculo esquelético y está más relacionado con metabolismo energético “de cuerpo completo” interviniendo en el transporte de ácidos grasos y regulación del metabolismo de la glucosa en el musculo esquelético (Boss et al., 2000; Schrauwen and Hesselink, 2002; Sherman et al., 2008).

El gen DGAT codifica para la enzima diacilglicerol O-aciltransferasa el cual cataliza el paso final en la esterificación de ácidos grasos a partir de diacylglicerol y acyl CoA en la re-síntesis de triacilgliceroles entre el lumen microsomal (Taga et al., 2011), se localiza en el BTA14, exón 8. La mutación DGAT-1 K232A (Tabla 1) está asociado a mayor contenido graso de la leche y mayor contenido graso en músculos semitendinosos (Winter et al., 2002; Thaller et al., 2003a; Grisart et al., 2004).

El gen LEP localizado en el BTA 4, produce un RNA mensajero leptina. Leptina es una hormona de 16-kDa secretada por las células blancas adiposíticas que actúan en tejidos centrales y periféricos regulando el consumo de alimento, gasto de energía y balance de energía en todo el cuerpo (Houseknecht et al., 1998). El polimorfismo está dado por cambio de base C/ T que codifica un cambio de aminoácido; arginina a cisteína, en la base posición uno del codón 25 (Buchanan et al., 2002). Altos niveles de mRNA leptina está asociado con el aumento de la deposición grasa en bovinos para engorde maduros (Kononoff et al., 2005), además de desempeñar un papel integral en el proceso de crecimiento (Delavaud et al., 2002). Las concentraciones de leptina circulante se relacionan con el puntaje de marmoleo, deposición grasa y grado de calidad de la canal (Geary et al., 2003).

El gen TG ubicado en el BTA 14 produce a la glucoproteína tiroglobulina, la cual es el precursor de hormonas tiroideas con papel importante en el metabolismo de la grasa, crecimiento de adipocitos y la homeostasis de los depósitos de grasa (Ailhaud et al., 1992; Casas et al., 2005). El Cambio de base en la posición 133 G/C ocasiona la mutación directamente relacionada con marmoleo (Gan et al., 2008). T3 y T4 han sido asociados con marmoleo en la canal del ganado negro japonés (Mears et al., 2001). Diversos marcadores de TG han sido asociados con marmoleo en la canal (Barendse et al., 1999; Barendse et al., 2004). Aun y cuando los polimorfismos de TG se han asociado a rasgos en la canal (Barendse et al., 1999; Thaller et al., 2003; Barendse et al., 2004), también existen estudios en los cuales ninguna asociación ha sido detectada (Casas et al., 2007).

El gen CAPN1, localizado en el BTA 29 (Page et al., 2002), codifica la proteasa  $\mu$ -calpaina que está relacionada con la proteólisis postmortem (Koohmaraie et al., 1996). SNP1: Polimorfismo en exón 9 del gen CAPN1 causado por substitución C/G (base 5709 de AF252504) que produce un cambio de aminoácido; de alanina (alelo C) por glicina (alelo G) en la posición 316, según Page (2002.) Los polimorfismos de la calpaina han sido puestos a prueba muchas veces en estudios de asociación para rasgos de calidad en la carne, mayormente para terneza y marmoleo (Page et al., 2002, 2004; White et al., 2005;

Casas et al., 2005, 2006; Pinto et al., 2010). SNP2 fue el primer marcador en el gen de CAPN1 que mostro asociación significativa con suavidad en la carne, tanto para *B. indicus* como para *B. Taurus* (White et al., 2005). CAPN1 SNP2: Mutación silenciosa localizada en el intrón 18 (base 6545 de AF248054), ocasiona una sustitución de citosina/timina (C/T) en la posición 4751 de acuerdo a White et al. (2005).

El gen CAST codifica a la enzima Calpastatina la cual es un inhibidor de  $\mu$ -calpaina. Calpastatina tiene una función importante en el proceso de suavización de la carne por sus efectos en la regulación de calpaina. Polimorfismos en el gen de la calpastatina están asociados con la suavidad de la carne según lo reportado por Casas et al. (2006) y Morris et al. (2006).

## **4. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.1. Lugar del estudio**

El muestreo de la presente investigación se llevó a cabo en 5 ranchos productores de bovinos de registro de la AMCGSS en 2 estados de la República Mexicana: Nuevo León y Jalisco. Las muestras de sangre fueron remitidas al departamento de biología molecular y genómica adscrito al Laboratorio Central Regional (LCR) del Comité para el Fomento y Protección Pecuaria (CFPP); posteriormente el análisis de los datos obtenidos del muestro de rasgos fenotípicos se recibió apoyo por parte del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) y por el Consejo Nacional de los Recursos Genéticos Pecuarios de México (CONARGEN), la Universidad Autónoma de Nuevo León (UANL) fue depositaria de los datos, análisis y resultado del estudio.

### **4.2. Animales experimentales, mantenimiento y alimentación**

Se seleccionaron un total de 222 animales de raza Simmental (n= 179) y Simbrah (n= 43) para someterlos a mediciones zoométricas, imágenes ultrasonográficas y análisis de marcadores moleculares. Los animales con un máximo de 10 meses de edad (ambos sexos) sin defectos morfológicos y mismo manejo zootécnico, fueron mantenidos en un modelo de grupos contemporáneos a lo largo del experimento y una ración balanceada adecuada a sus necesidades metabólicas (NRC, 1996), TND= 2.72 kg, EM= 4.48Mcal, PC= 0.471 kg.

#### **4.2.1. Formación de grupos contemporáneos**

El libro de hato en cada una de las explotaciones fue usado para tomar los datos referentes a progenitores de la cría, fecha de nacimiento y valores productivos del animal. En base a estos datos se determinaron los grupos contemporáneos para cada ganadería, y se integraron la mayor cantidad de individuos según lo marcan los lineamientos de la Federación para el mejoramiento de ganado cárnico (BIF, 2010). Después de obtener los datos de peso al nacimiento y peso al destete, se ajustaron los pesos a 205 días de edad de individuos con diferentes edades para su alineación al modelo de grupo contemporáneo.

### **4.3. Datos zoométricos y muestreo de sangre**

La circunferencia escrotal fue tomada por medio de una cinta métrica flexible de testimetría (Nasco®, ID C07790N) para el caso de los machos; por otro lado se midió la talla corporal utilizando un bastón en “L” invertido (Sullivan Supply®, ID 21765). Para el

pesaje de los animales se utilizó una báscula digital (Gallagher® ID G060 e ID G012504, pantalla de lectura y barras de medición de carga). Por otra parte, las muestras de sangre fueron colectadas por punción de la vena coccígea por medio de instrumento de punción Vacutainer® y tubos EDTA (BD and Company®, tubo de ensayo, aguja, barril de seguridad para venopunción), se mezcló por inversión y se mantuvo en refrigeración para su posterior análisis de marcadores moleculares.

#### **4.3.1. Colección de imágenes de ultrasonido**

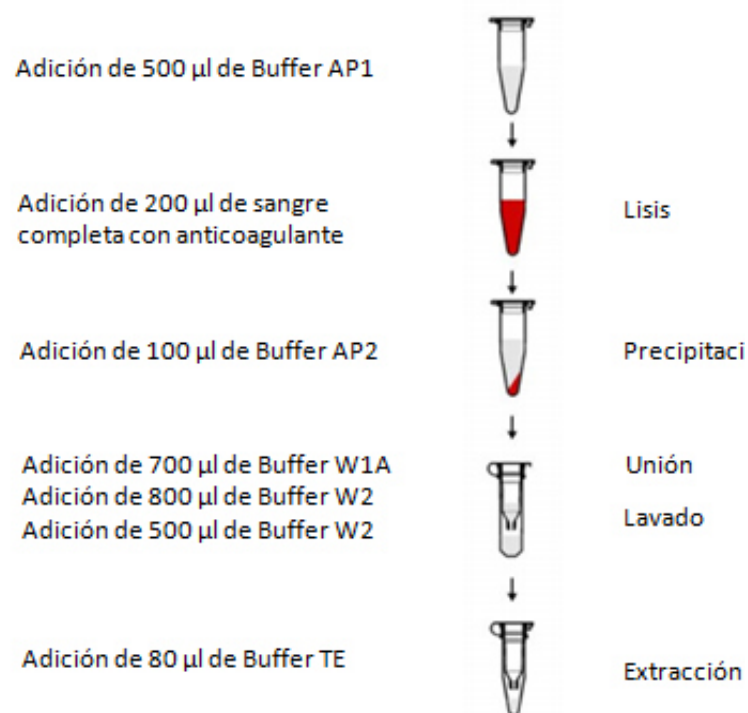
Se tomaron 3 imágenes para la puntuación y obtención de un promedio de las mediciones de área del ojo de la costilla, grasa dorsal y grasa de la cadera. La toma de imágenes de ultrasonografía se llevó a cabo por medio de un ultrasonido tiempo real (Aloka SD-900) y un transductor lineal de 17 cm (3.5 MHz, Aloka®), calibrado según los lineamientos para la toma de ultrasonido de mérito en la canal de la Federación para el mejoramiento de ganado cárnico (BIF-UGC, 2006), para el posicionamiento del transductor en cada una de las regiones de interés se localizó el punto de referencia por medio de palpación manual; para AOL fue entre la 12° y 13° costilla, para imágenes de GD se toman en cuenta las vértebras 11°, 12° y 13°; en el caso de GCA se palpó como referencia la tuberosidad coxal. Cada una de las zonas antes mencionadas se preparó el área con la rasuradora Oster Clipmaster (Sunbeam Products, Inc®. USA), navaja 40, esto para permitir mayor calidad de imagen al contacto del transductor. El agrupamiento de la información se realizó con el equipo de cómputo BlackBox (software y hardware) (Biotronics, Inc®) y unidad de almacenamiento USB con capacidad de 1000 individuos, generó un registro por animal que incluyó: número de identificación privado, raza, edad, peso, tipo de manejo zootécnico, TC, CE, e IU.

#### **4.3.2. Aislamiento de ADN a partir de sangre completa**

El aislamiento de ADN se llevó a cabo por medio del kit Axy Prep Blood Genomic DNA Miniprep (Axygen Biosciences, USA) para sangre completa, usando el protocolo Axy prep, (Axygen Biosciences, 2011) A un tubo eppendorf de 1.5 ml se adicionaron 500µl de Buffer AP1, posteriormente con una micropipeta (Labnet-Biopipet®) se agregaron 200µl de sangre completa con anticoagulante, se mezcló en el Vortex Mixer (KMC-1300v, Vision®) por 10 segundos, después se adicionaron 100µl de Buffer AP2 y mezclado por Vortex por 10 segundos. Posteriormente se centrifugo (5415c, Eppendorf®) a 12,000 x g por 10 minutos a temperatura ambiente para peletizar los remanentes, se colocó la

minicolumna de preparación en un eppendorf de 2ml, se colectó el sobrenadante obtenido del paso anterior en la columna miniprep (Axygen, 2011), después se centrifugó a 6,000 x g por 1 min. Se desechó el filtrado del tubo de 2ml. Para ubicar la columna de nuevo en el tubo de 2ml. Se agregaron 700µl de Buffer W1A en una columna miniprep y se incubó a temperatura ambiente por 2 min, para después centrifugar a 6,000 x g por 1 min. Se desechó el filtrado del tubo de 2ml, y se volvió a ubicar en la columna miniprep, después se agregó 800µl de Buffer W2 a la columna miniprep y se centrifugó a 12,000 x g por 1 min. Se recuperó el filtrado del tubo de 2ml y se colocó de nuevo en la columna miniprep y se centrifugó a 12,000 x g por un min. El contenido de la columna se colectó en un tubo de 1.5ml y después se agregó 80µl del Buffer TE. Se incubó a temperatura ambiente por 1 min y después se centrifugó a 12,000 x g por 1 min para extraer el ADN genómico.

### Resumen



**Figura 1. Diagrama de flujo para extracción de ADN genómico.**

En la cuantificación del material genético se empleó el espectrofotómetro Nanodrop 2000 (Thermo Scientific®), del ADN extraído se tomaron 2µl de cada muestra para cuantificación, de la concentración obtenida se realizaron los cálculos y posteriormente diluciones para lograr una concentración cercana a 50ng/µl.



#### 4.4. Amplificación de fragmentos génicos a través de d-PCR en 16 SNP's

Las secuencias propuestas para el microchip tienen su origen en publicaciones científicas relacionadas con el descubrimiento y detección de polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) de los distintos genes que tienen relación con características que mejoran la producción cárnica. Se analizaron 16 loci SNP en un chip de reacción múltiple con discriminación alélica y generación de fluorescencia.

**Tabla 1. Secuencias de Marcadores Moleculares y sus fluoroforos VIC-FAM.**

Gen	Marcador	Ancestral (VIC)	Mutación (FAM)
CAPN	CAPN316	CC	GG
	CAPN4751	CC	GG
CAST	SNP1	GG	AA
	SNP2	AA	TT
DGAT	DGAT1 K232A	AAAA	GCGC
GHR	SNP1	GG	AA
	SNP2	GG	AA
GHRH	SNP1	AA	TT
LEP	Arg25Cys	CC	TT
NPY	AY491054-284	GG	AA
	AY491054-666	GG	AA
	AY491054-30302	TT	CC
UCP2	SNP1	GG	CC
	SNP3	GG	AA
UCP3	SNP2	GG	AA
TG	5'C422T	CC	TT

##### 4.4.1. Condiciones y parámetros para la amplificación por medio de PCR

El experimento se llevó a cabo con un programa predispuesto para las condiciones de óptima amplificación de fragmentos de interés, siendo fijas las concentraciones y cantidades de ADN y TaqMan OpenArray Master Mix® (Tabla 2).

**Tabla 2. Componentes de la reacción de d-PCR.**

Preparación de PCR	
Reactivo	Volumen para una reacción
TaqMan OpenArray Master Mix (2x)	2.5µl
ADN genómico	2.5µl (50µg/µl)
Volumen total por pozo en 384	5.0µl

La concentración de ADN que se utilizó fue la recomendada en el manual para el Chip de OpenArray® (AppliedBiosystems, 2011). Se utilizó una concentración de 47.6 ng/μl de ADN, la placa de 384 pozos es el lugar donde se mezcló con TaqMan OpenArray Master Mix, esta formulación incluyó todo para el experimento de PCR en placa: enzima, nucleótidos, referencia pasiva ROX y buffer, en su forma original se encuentra a concentración 2X, el factor de dilución para usarse a concentración final de 1X.

El modo en que se pasó de la placa de 96 a 384 pozos fue la siguiente: en una placa de 96 pozos se deposita el material genético siguiendo un orden consecutivo, con una pipeta de 12 canales se depositan en la placa de 384 pozos, 2.5μl de TaqMan MasterMix® (Applied Biosystems, USA), y después 2.5μl de ADN genómico a concentración de 47.6μl, de manera intercalada según el diagrama de llenado de la placa 384 pozos, para facilitar esta tarea se marcó una línea que delimita la zona correspondiente a cada placa OpenArray®, al terminar el llenado de la placa se selló con aluminio para evitar que las muestras, por su bajo volumen, se evaporaran además de permitir su almacenaje a -20°C.

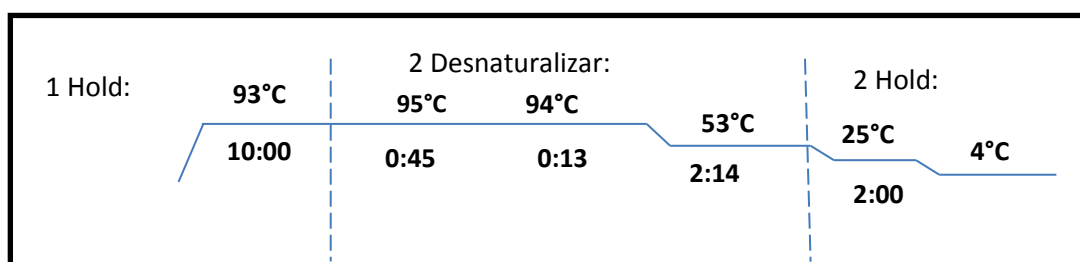
El modo en que se pasó de la placa de 384 pozos a el Chip OpenArray® fue la siguiente: el formato que se utilizó en este estudio fue el de 16 x 144 (16 marcadores moleculares x 144 individuos probados) por placa y placa parcial en su caso. En cada subarreglo se dispensaron 3 muestras diferentes de ADN por subarreglo a través del NT accufill® (Brazo robótico, AppliedBiosystems, USA).

Se cortó el aluminio de la serie de muestras que fueron cargadas a la placa de acero, siguiendo la guía de identificación numérica única para la placa, se ubicaron las puntillas especiales para el brazo robótico en el casete Tip block® (AppliedBiosystems, USA), después se colocó la placa de acero sobre el soporte de auto llenado, el NT accufill® fue programado una vez colocada la placa, el robot comenzó a llenar las puntillas e ir desechando las puntillas utilizadas hasta completar el programa pre-establecido de llenado para placa. Seguido del llenado de la placa se debe extraer la lámina de la cabina de auto llenado y depositarlo en el casete de vidrio de calidad óptica dispuesto para el termo ciclado, se deslizó suavemente la lámina dentro del casete y se llenó con el aceite de inmersión, contenido en la pipeta incluida en el kit, para finalizar sellando el casete con el polímero susceptible a rayos UV en el sellador de emisión de rayos UV, esto por 2 minutos aproximadamente.

Una vez cargado el chip con la mezcla de reactivos y ADN del sujeto se procedió a realizar la amplificación de los fragmentos de interés por medio del termo-ciclador en placa GeneAmp PCR system® (AppliedBiosystems, USA) con programa predeterminado de amplificación (Tabla 3).

**Tabla 3. Temperaturas y tiempos de duración de ciclos para la PCR del chip (OpenArray Genotyping Case).**

Tiempos y temperatura		
Inicio	Ciclo (50 en total).	
	Desnaturalizar	Alineamiento/Extensión
HOLD	Ciclo	
93°C por 10 minutos	94°C por 13 segundos	60°C por 1 minuto



**Figura 2. Cambios de temperatura y tiempos (minutos) por ciclo en PCR.**

#### 4.4.2. Discriminación alélica y Detección de Fluorescencia

La discriminación alélica se llevó a cabo en base al ensayo 5' nucleasa, consta de una sonda de hibridación incluida en la PCR que se ancló por acción de la DNA Taq (AppliedBiosystems, 2001). Para detectar fluorescencia fue necesaria la excitación de reporteros fluoróforos (VIC-FAM), utilizando el termociclador OpenArray NT cycler 7900® (AppliedBiosystems, USA). Las secuencias y mutaciones se presentan en tabla 4.

**Tabla 4. Marcadores moleculares, sus genotipos y codificación numérica.**

Gen	Marcador SNP	Homocigoto (0)	Heterocigoto (1)	Homocigoto (2)
<b>GHR</b>	SNP1	AA	AG	GG
	SNP2	AA	AG	GG
<b>GHRH</b>	SNP1	AA	AT	TT
<b>NPY</b>	SNP1	GG	GA	AA
	SNP2	GG	GA	AA
	SNP3	TT	TC	CC
<b>UCP2</b>	SNP1	GG	GC	CC
	SNP3	GG	GA	AA
<b>UCP3</b>	SNP2	AA	GA	GG
<b>DGAT</b>	SNP1	GCGC	AAGC	AAAA
<b>LEP</b>	SNP1	CC	CT	TT
<b>TG</b>	SNP1	CC	CT	TT
<b>CAPN</b>	SNP1	GG	GC	CC
	SNP2	TT	TC	CC
<b>CAST</b>	SNP1	GG	GC	CC
	SNP2	TT	CT	CC

Se generaron gráficas de dispersión las cuales fueron almacenadas en archivos computacionales para cada corrida. Las muestras fueron guardadas a 4°C con capacidad de ser leídas en los próximos 5 días después de su preparación.

#### **4.4.3. Análisis e interpretación de los datos**

El software OpenArray® asignó automáticamente los genotipos a las muestras identificadas en cada uno de los experimentos individuales. Las muestras que resultaron sin asignación, se corrieron en experimentos subsecuentes para confirmación de error o corrección de resultado.

#### **4.5. Análisis Estadístico**

Debido a que ambas razas tuvieron comportamiento estadístico similar, se analizaron de manera conjunta (n=222). Se evaluaron los loci para las variables de rasgos de importancia económica (ERT). Al comparar los niveles correspondientes al genotipo (0, 1 y 2) en un Análisis de varianza (ANVA) basado en un modelo lineal univariado se encontraron diferencias significativas entre los distintos niveles. La comparación de medias por Diferencia mínima significativa de Fisher (DMS) mostro que distintos niveles de los genotipos resultaron con mejores mediciones para las ERT's en la población estudiada.

Aquellos SNP's donde no hubo detección de fluorescencia (NC) fueron excluidos del análisis estadístico.

El modelo estadístico utilizado fue:

$$Y_{ij} = \mu + A_i + G_j + e_{ij}$$

Dónde:  $Y_{ij}$ = ERT analizado,  $\mu$ = Media general del ERT,  $A_i$ = Efecto fijo de grupo,  $G_j$ = Efecto del j-esimo genotipo en el locus asociado,  $e_{ij}$ = error aleatorio asociado a la muestra.

## 5. RESULTADOS

Las medias y desviación estándar de rasgos de importancia económica (ERT) para participantes se describen en la tabla 5.

**Tabla 5. Descripción de ERT medidas, sus medias y desviación estándar.**

<b>Característica Medida</b>	<b>Abreviación</b>	<b><math>\bar{x}</math></b>	<b>DE</b>
<b>Peso al Nacimiento (Kilogramo)</b>	PN	40.37	6.52
<b>Peso Ajustado a los 205 días de edad (Kilogramo)</b>	Paj205	227.15	52.29
<b>Circunferencia escrotal (centímetro)</b>	CE	33.07	3.89
<b>Talla corporal (centímetro)</b>	TC	6.08	1.35
<b>Porcentaje de grasa intramuscular (%)</b>	% GI	2.14	0.89
<b>Marmoleo</b>	Marm	3.91	0.51
<b>Grasa dorsal (pulgada)</b>	GD	0.10	0.04
<b>Grasa de la cadera (pulgada)</b>	GCA	0.08	0.07
<b>Área del ojo del lomo (longissimus dorsi)(pulgada)</b>	AOL	10.20	2.38
<b>Rendimiento de la canal</b>	CPYG	2.24	0.11
<b>Diferencia esperada de la progenie Peso al Nacimiento</b>	DEP PN	0.30	0.30
<b>Diferencia esperada de la progenie Peso al destete directo</b>	DEP PDD	2.99	3.94
<b>Diferencia esperada de la progenie Peso al año</b>	DEP PA	1.26	2.56

El material genético fue sometido a apareamiento de sondas fluoróforas (VIC= Homocigoto 0; intermedio= Heterocigoto 1; FAM= Homocigoto 2 y NC= sin reacción) y discriminación alélica, a partir del cual se obtuvieron los resultados de frecuencia alélica para los loci propuestos, como se muestra en la tabla 6.

**Tabla 6. Frecuencia alélica de los SNP's en la población estudiada (n=222).**

Gen	SNP	% Homocigoto (0)	% Heterocigoto (1)	% Homocigoto (2)	% NC
<b>GHR</b>	SNP1	13.12	23.08	39.37	24.43
	SNP2	18.10	36.20	35.76	9.95
<b>GHRH</b>	SNP1	17.19	28.51	38.01	16.29
<b>NPY</b>	SNP1	9.05	29.38	41.18	19.91
	SNP2	3.17	19.46	43.89	33.48
	SNP3	22.17	34.39	23.98	19.46
<b>UCP2</b>	SNP1	56.56	19.00	9.05	15.38
	SNP3	4.52	29.41	54.30	11.76
<b>UCP3</b>	SNP2	4.98	12.22	47.96	38.84
<b>DGAT</b>	SNP1	66.06	15.84	4.52	13.57
<b>LEP</b>	SNP1	40.27	42.08	12.22	5.43
<b>TG</b>	SNP1	38.46	31.67	19.46	10.41
<b>CAPN</b>	SNP1	1.81	2.71	74.66	20.81
	SNP2	17.19	34.39	40.27	7.78
<b>CAST</b>	SNP1	4.07	21.72	56.56	17.65
	SNP2	18.55	45.70	26.24	9.50

Los resultados del análisis estadístico indican asociación en distintas ERT con genes y locus en el genoma. A continuación los resultados y sus respectivas tablas por gen seleccionado.

### 5.1. GHR (Receptor de Hormona del Crecimiento)

Asociaciones entre los SNP's de GHR y ERT (crecimiento y calidad de la canal) fueron analizadas en la población (Tabla 7). SNP1 en su alelo mutado se presentó en un 39.37% de la población muestreada y fue asociado con AOL ( $P<0.05$ ), DEP PN ( $P<0.01$ ), mostrando mejores mediciones aquellos con el genotipo 1 para ambas características, según DMS ( $P<0.05$ ). Así mismo SNP 2, alelo mutado, se presentó en 35.76% de los individuos y fue asociado con PN ( $P<0.05$ ), Paj205 ( $P<0.01$ ), AOL ( $P<0.05$ ), DEP PN ( $P<0.05$ ), y DEP PDD ( $P<0.05$ ), según DMS ( $P<0.05$ ) mejores mediciones individuos con genotipos: 2, 2, 1, 1 y 2, sucesivamente.

**Tabla 7. Asociaciones en SNP's GHR con ERT; significancia y prueba de DMS.**

<b>GHR</b>		<b>ANVA (P&lt;)</b>	<b>genotipo</b>	<b><math>\bar{x}</math></b>	<b>DMS (P&lt;0.05)</b>
<b>Característica</b>	<b>SNP</b>				
<b>Crecimiento</b>					
<b>PN</b>	SNP2	0.05	2	39.230	b
<b>Paj205</b>	SNP2	0.05	2	250.087	a
<b>Calidad de la canal</b>					
<b>AOL</b>	SNP1	0.05	1	10.556	a
	SNP2	0.05	1	10.802	a
<b>DEP's</b>					
<b>DEP PN</b>	SNP1	0.01	1	0.217	b
	SNP2	0.05	1	0.485	b
<b>DEP PDD</b>	SNP2	0.05	2	3.742	a

## 5.2. GHRH (Hormona Liberadora de Hormona del Crecimiento)

Asociaciones en el SNP para GHRH y ERT relacionados con crecimiento y calidad de la canal fueron analizados en la población (Tabla 8). SNP1, en su alelo mutado, fue detectado en 38.01% de la población muestreada y fue asociado con PN (P<0.01), GD (P<0.01), CPYG (P<0.01) y DEP PN (P<0.05), resultando mejores mediciones aquellos con el genotipo 2 para cada característica, según DMS (P<0.05).

**Tabla 8. Asociaciones en SNP GHRH con ERT; significancia y prueba de DMS.**

<b>GHRH</b>		<b>ANVA (P&lt;)</b>	<b>genotipo</b>	<b><math>\bar{x}</math></b>	<b>DMS (P&lt;0.05)</b>
<b>Característica</b>					
<b>Crecimiento</b>					
<b>PN</b>		0.01	2	39.442	b
<b>Calidad de la canal</b>					
<b>GD</b>		0.01	2	0.088	b
<b>CPYG</b>		0.01	2	2.222	b
<b>DEP's</b>					
<b>DEP PN</b>		0.05	2	0.275	a



### 5.3. NPY (Neuro Peptido Y)

Asociaciones entre los SNP's para NPY y ERT, relacionados con crecimiento y calidad de la canal fueron analizadas en la población estudiada (Tabla 9). El SNP1 estuvo presente en 41.18% en dicha población, en su alelo mutado, y fue asociado con PN ( $P<0.01$ ), TC ( $P<0.01$ ) y DEP PDD ( $P<0.05$ ), demostrando mejores mediciones con los genotipos: 2, 1 y 1 respectivamente, según la prueba de DMS ( $P<0.05$ ). Así mismo SNP2 se presentó en su alelo mutado, en el 43.89% de la población muestreada y fue asociado con PN ( $P<0.05$ ), Paj205 ( $P<0.05$ ), CE ( $P<0.01$ ), TC ( $P<0.05$ ), Marm ( $P<0.05$ ) y AOL ( $P<0.01$ ), obteniendo mejores medidas los individuos con genotipo: 1, 2, 2, 2, 0 y 2 respectivamente, según el análisis DMS ( $P<0.05$ ). SNP3 se detectó en su alelo mutado en 23.98% de los individuos muestreados y fue asociado con CE ( $P<0.01$ ), %GI ( $P<0.05$ ), CPYG ( $P<0.01$ ) y DEP PA ( $P<0.05$ ), demostraron mejores resultados aquellos con genotipo: 0, 2, 1 y 1 respectivamente, según DMS ( $P<0.05$ ).

**Tabla 9. Asociaciones en SNP's NPY con ERT; significancia y DMS.**

Característica	NPY	ANVA ( $P<$ )	Genotipo	$\bar{x}$	DMS ( $P<0.05$ )
<b>Crecimiento</b>					
<b>PN</b>	SNP1	0.01	2	38.085	b
	SNP2	0.05	1	39.293	b
<b>Paj205</b>	SNP2	0.05	2	263.063	a
<b>CE</b>	SNP2	0.01	2	36.500	a
	SNP3	0.01	0	34.667	a
<b>TC</b>	SNP1	0.01	1	6.571	a
	SNP2	0.05	2	7.416	a
<b>Calidad de la canal</b>					
<b>% GI</b>	SNP3	0.05	2	2.423	a
<b>Marm</b>	SNP2	0.05	0	4.091	a
<b>AOL</b>	SNP2	0.01	2	13.713	a
<b>CPYG</b>	SNP3	0.01	1	2.183	b
<b>DEP's</b>					
<b>DEP PDD</b>	SNP1	0.05	1	3.210	a
<b>DEP PA</b>	SNP3	0.05	1	2.509	a

#### 5.4. UCP 2 y 3 (Proteína desacopladoras)

Los polimorfismos de UCP2 y UCP3 muestran asociación con rasgos productivos de crecimiento y calidad de la canal en la población estudiada (Tabla 10). UCP2 SNP1 se presentó en su alelo mutado en un 9.05% de la población y fue asociado ( $P<0.05$ ) con GD, CPYG, DEP PA, mostrando resultados favorables en los genotipos: 0, 0 y 2 respectivamente, según el análisis de DMS ( $P<0.05$ ). UCP2 SNP3, en su alelo mutado, estuvo presente en 54.30% de la población muestreada y fue asociado con GD ( $P<0.01$ ), CPYG ( $P<0.01$ ), DEP PN ( $P<0.05$ ) y DEP PA ( $P<0.05$ ), resultando con mejores mediciones con los genotipos: 2, 2, 2, 0, respectivamente, según DMS ( $P<0.05$ ). UCP3 SNP2, en su alelo mutado, fue detectado en 47.96% de los animales muestreados y se asoció ( $P<0.01$ ) con PN, GD, CPYG y DEP PDD, mostrando mediciones más favorables en los genotipos 2, 2, 2 y 0, respectivamente, según el análisis de DMS ( $P<0.05$ ).

**Tabla 10. Asociaciones en SNP's UCP2 y UCP3 con ERT; significancia y DMS.**

Característica	UCP	ANVA ( $P<$ )	Genotipo	$\bar{x}$	DMS ( $P<0.05$ )
<b>Crecimiento</b>					
<b>PN</b>	UCP3 SNP2	0.01	2	38.544	b
<b>Paj205</b>	UCP2 SNP3	0.05	0	280.775	a
<b>Calidad de la canal</b>					
<b>GD</b>	UCP2 SNP1	0.05	0	0.096	b
	UCP2 SNP3	0.01	2	0.086	b
	UCP3 SNP2	0.01	2	0.097	b
<b>CPYG</b>	UCP2 SNP1	0.05	0	2.236	b
	UCP2 SNP3	0.01	2	2.212	b
	UCP3 SNP2	0.01	2	2.238	b
<b>DEP's</b>					
<b>DEP PN</b>	UCP2 SNP3	0.05	2	0.254	b
<b>DEP PDD</b>	UCP2 SNP3	0.01	0	11.287	a
	UCP3 SNP2	0.01	0	8.072	a
<b>DEP PA</b>	UCP2 SNP1	0.05	2	5.156	a
	UCP2 SNP3	0.05	0	8.225	a

### 5.5. DGAT (Diacilglicerol Transferasa)

El polimorfismo DGAT SNP1 se asoció a ERT de crecimiento y calidad de la canal (Tabla 11). SNP1 en su alelo mutado se detectó en un 9.05% de la población y fue asociado a PN ( $P<0.05$ ), GD ( $P<0.01$ ) y GCA ( $P<0.05$ ), siendo mejores mediciones el genotipo 0, según DMS ( $P<0.05$ ).

**Tabla 11. Asociaciones en SNP DGAT con ERT; significancia y DMS.**

DGAT	ANVA ( $P<$ )	genotipo	$\bar{x}$	DMS ( $P<0.05$ )
<b>Característica</b>				
<b>Crecimiento</b>				
PN	0.05	0	39.752	b
<b>Calidad de la canal</b>				
GD	0.01	0	0.094	b
GCA	0.05	0	0.071	a

### 5.6. LEP (Leptina)

Asociaciones entre el SNP LEP y ERT de crecimiento y calidad de la canal fueron analizadas (Tabla 12). SNP1 se detectó en su alelo mutado en 12.22% de los individuos muestreados y fue asociado con Marm ( $P<0.05$ ) y DEP PDD ( $P<0.01$ ), mostrando mejores mediciones el genotipo 2 en ambas mediciones, según DMS ( $P<0.05$ ).

**Tabla 12. Asociaciones en SNP LEP con ERT; significancia y DMS.**

LEP	ANVA ( $P<$ )	genotipo	$\bar{x}$	DMS $P<0.05$ )
<b>Característica</b>				
<b>Calidad de la canal</b>				
Marm	0.05	2	3.998	a
<b>DEP's</b>				
DEP PDD	0.01	2	5.061	a

### 5.7. TG (Tiroglobulina)

Asociaciones entre el polimorfismo TG y rasgos productivos relacionados con crecimiento y calidad de la canal fueron analizadas en la población estudiada (Tabla 13). El SNP1 en su alelo mutado, se detectó en 19.46% de los animales participantes y fue asociado con PN ( $P<0.05$ ), CE ( $P<0.01$ ), Marm ( $P<0.05$ ), GD ( $P<0.05$ ), AOL ( $P<0.01$ ), CPYG ( $P<0.05$ ),

DEP PDD ( $P<0.05$ ) y DEP PA ( $P<0.05$ ), resultando en mejores mediciones con el genotipo: 0, 1, 2, 2, 1, 2, 1 y 2, según la prueba estadística DMS ( $P<0.05$ ).

**Tabla 13. Asociaciones en SNP TG con ERT; significancia y DMS.**

<b>TG</b>	<b>ANVA (<math>P&lt;</math>)</b>	<b>genotipo</b>	<b><math>\bar{x}</math></b>	<b>DMS (<math>P&lt;0.05</math>)</b>
<b>Característica</b>				
<b>Crecimiento</b>				
<b>PN</b>	0.05	0	38.810	b
<b>CE</b>	0.01	1	35.785	b
<b>Calidad de la canal</b>				
<b>Marm</b>	0.05	2	4.051	a
<b>GD</b>	0.05	2	0.090	a
<b>AOL</b>	0.01	1	10.977	a
<b>CPYG</b>	0.05	2	2.220	b
<b>DEP's</b>				
<b>DEP PDD</b>	0.05	1	4.414	a
<b>DEP PA</b>	0.05	2	3.974	a

### **5.8. CAPN (Calpaina)**

El SNP1 en su alelo mutado, fue detectado en 74.66% de la población muestreada. Por otra parte el SNP2 se presentó en 40.27%, en su alelo mutante, de los individuos muestreados.

### **5.9. CAST (Calpastatina)**

El locus SNP1 estuvo presente en 56.56%, en su forma mutada, de los animales muestreados. El SNP2 se detectó, en su condición mutada, en 24.24% de los individuos participantes.

## **6. DISCUSIÓN**

El objetivo de este estudio fue detectar polimorfismos de los genes propuestos y su asociación con los rasgos de importancia económica (ERT) en el ganado productor de carne. Un cromosoma está formado por genes, secuencias específicas que tienen efecto y función en la morfología y fisiología del individuo (Brandenberg et al., 2011). Las pruebas de ADN permiten hacer evaluaciones poco después del nacimiento (Garrick, 2013; Thallman, 2004) o desde una etapa embrionaria, ventaja importante para rasgos productivos que solo pueden ser medidos después de cierta edad para tomar decisiones de selección, después de la muerte de un individuo sobresaliente y aquellas limitadas por su costo o por el sexo del individuo (Thallman, 2004). Aunque las características medibles sean poligénicas y polimórficas, un semental puede ser analizado genómicamente para los marcadores polimorfismos de un solo nucleótido (SNP) disponibles, de modo que se obtengan estimados más relevantes y de mayor confiabilidad para los marcadores moleculares (MM) y basar en este procedimiento la selección de individuos (Garrick, 2013; Newman, 2011).

### **6.1. Gen GHR (Receptor de la Hormona del Crecimiento)**

Polimorfismos para el gen GHR fueron estudiados por Sherman et al. (2008) para asociación a rasgos de calidad en la canal y su calificación después del sacrificio de bovinos (Continental x Vaquillas Híbrido Británico para carne, n=464), los resultados mostraron una asociación con características de crecimiento (peso final en la prueba) medición similar a la realizada en nuestro estudio (Paj205). Esto también ha sido reportado por Curi et al. (2006) donde asocia polimorfismos de GHR con rasgos de crecimiento (peso al final de la prueba y peso de la canal).

Para las características de calidad de la canal Sherman et al. (2008) y Curi et al. (2006) no reportan una asociación significativa para la medición de AOL; en cambio el presente estudio muestra una asociación ( $P < 0.05$ ) en ambos polimorfismos propuestos para AOL. Esta misma asociación se encontró para AOL en ganado bovino de la raza Nelore (Gomes et al., 2013, n=290).

La función fisiológica de GHR consiste en la regulación del crecimiento a través de su activación por medio la hormona del crecimiento (Breier et al., 2000; Philips et al., 1995), sin embargo, la activación de la hormona GH tiene muchas otras funciones como la

promoción del crecimiento lineal, reposición proteica, síntesis de grasas, oxidación de ácidos grasos, movilización de grasa corporal (Breier et al., 2000; Renaville et al., 2002). Se han reportado asociaciones con otros rasgos de deposición grasa donde un fragmento de 1,195 pares de bases de ADN fue re-secuenciado y se realizó un análisis de asociación de genotipo con fenotipo para la medición de grasa de las costillas en ganado Brangus (Garret et al., 2008). No se encontró reporte previo de relación con mediciones PN ni tampoco DEP - PN y DEP - PDD las cuales resultaron significativas en este estudio y más favorable que la media de la población para dichas características.

## **6.2. Gen GHRH (Hormona Liberadora de Hormona del Crecimiento)**

Estudios realizados por Connor et al. (1999, 2000b) en bovinos de raza Angus (n=56 y n=72), relacionan la aplicación de GHRH con distintos rasgos de interés productivo como crecimiento y GD, por medio de la medición de respuesta de GH a aplicaciones de GHRH y su cálculo del área bajo la curva, animales más responsivos a GH demostraban ser más magros. Del mismo modo Cheong et al. (2006) asocia mediciones ERT y polimorfismos re-secuenciados del gen GHRH, en vaquillas (n=428) no emparentadas hijas provenientes de 76 toros distintos de la raza cárnica Hanwoo, nativa de Corea. Los resultados indican asociaciones con rasgos de peso de la canal y AOL. En nuestro estudio se presenta una clara asociación ( $P < 0.01$ ) del locus propuesto y rasgos de crecimiento (PN) y calidad de la canal (GD y CPYG), mostrando mediciones favorables en el genotipo 2 en comparación a la media de la población estudiada (PN= 39.442 vs. 40.370; GD= 0.088 vs. 0.10; CPYG= 2.222 vs. 2.240). Así mismo Zhang et al. (2012) en un estudio de asociación de rasgos productivos con el gen GHRH basado en ganado bovino nativo de China (n=105), los resultados indican el efecto del locus propuesto en el crecimiento del ganado Nanyang a los 6, 12, 18 y 24 meses de edad. El aumento de GHRH natural y sus análogos en la circulación sanguínea mejora la retención de nitrógeno (N), aumentos de peso, y producción láctea además se asocia a rasgos cuantitativos importantes como: calidad de la canal y crecimiento en bovinos (Scarborough et al., 1988; Cheong et al., 2006), grasa dorsal y ganancia diaria de peso en porcinos (Franco et al., 2005), y a polimorfismos de GH.

## **6.3. Gen NPY (Neuro Peptido Y)**

Se han reportado loci para rasgos cuantitativos (QTL's) en el cromosoma autosomal bovino (BTA) 04 para rasgos productivos, incluidos de puntaje de marmoleo y AOL

(Mizoshita et al., 2004). Zhang et al. (2011) asocian rasgos productivos con locus para el gen NPY en razas chinas productoras de carne. Los resultados indican una asociación del locus con rasgos de crecimiento incluidos peso corporal y TC a los 180 días, similar a lo encontrado en el presente estudio donde existe una asociación con TC y Paj205.

En animales cruzados Continental x Vaquillas Híbrido Británico para carne tres SNP's para NPY mostraron solo una tendencia a asociación de los rasgos para crecimiento (Peso al final de la prueba, peso de la canal al final de la prueba, Marm, GD y grado de calidad) (Sherman et al., 2008).

Por otro lado, el presente estudio muestra una asociación significativa con rasgos de crecimiento (Paj205) y calidad de la canal (Marm y CPYG). Su aumento regula la secreción de leptina además de participar en la regulación de GH. Las funciones del péptido NPY incluyen la regulación de la homeostasis, conversión alimenticia, potente estimulante del apetito y consumo de agua, antilipolítico, además de encontrarse en sistema nervioso central y tejidos periféricos (Bahar and Sweeney, 2008; mencionado por Smitka et al., 2013). Lo anterior comprobado en los experimentos de Tiesjema et al. (2007) donde la sobreexpresión del gen NPY produjo hiperfagia prolongada y aumento del peso corporal, debido al aumento de las porciones alimenticias consumidas. No se encontraron reportes previos para CE y TC sin embargo estas mediciones están directamente relacionadas con el peso a 205 días en bovinos de carne (Boligon et al., 2010; Vargas et al., 2000). Para la medición PN no se encontraron reportes previos de asociación en bovinos. Sin embargo, ratas con una dieta baja en proteínas sus crías resultaron con menores pesos al nacimiento, pero un crecimiento más rápido en dietas altas en proteína, además estas crías mostraron disfunción metabólica en edad adulta, debido a la sobre expresión del gen NPY, y por lo tanto, aumento en la circulación del péptido desencadenando la ruta adipogénica visceral, por lo tanto la dieta restringida en las madres resulto en la activación de sobre expresión del gen y su producto en las crías (Han et al., 2012).

#### **6.4. Gen UCP (Proteína desacopladora)**

Kim et al. (2003) reportan detección de QTL's en el BTA 15 relacionados con porcentaje y distribución de grasa pélvica, en riñón y corazón en relación con el peso final de la canal. Los genes UCP2 y UCP3 y sus polimorfismos han sido relacionados con la eficiencia metabólica, alimenticia y crecimiento en ganado bovino según el estudio presentado por Sherman et al., (2008), bovinos (n=464) de cruce compuesta (Continental x Vaquillas Híbrido Británico para carne). Los resultados demuestran asociación con peso final en la

prueba, carne magra resultante y promedio de grasa dorsal. En el presente estudio estas medidas están relacionadas con características de crecimiento (Paj205) y calidad de la canal (CPYG y GD). Así mismo, el estudio presentado por Ryu (2012) se analizó un polimorfismo para UCP2 y sus asociaciones con características fenotípicas de las canales en vaquillas Bos taurus (n=380) autóctono (Ganado coreano de raza Hanwoo) no emparentadas, se sacrificaron a los 871 días de edad. Los resultados indicaron que el polimorfismo para UCP2 mostro asociación significativa ( $P<0.05$ ) con rasgos fenotípicos de la canal, incluidos grasa dorsal y peso de la canal. Existen antecedentes de que UCP2 está relacionado con la termogénesis en células adiposíticas blancas en la etapa adulta, además de expresarse en tejidos diversos, incluidos: musculo esquelético, corazón, riñones y pulmones, entonces se dice que está relacionado con el mantenimiento de la energía en el ganado (McDanel et al., 2002). UCP3 se expresa principalmente en musculo esquelético, células adiposíticas marrones y en menor medida en el corazón, teniendo asociación con características de obesidad y diabetes tipo 2 (resistencia a insulina) en poblaciones humanas (mencionado en Boss et al., 2000). Smith et al. (2004) mide las concentraciones de mRNA RNA de UCP1 en fetos, recién nacidos y becerros de las razas Angus y Brahman. Los resultados indican que este gen y sus productos son importantes para la lipogénesis a partir de adipocitos marrones así como su metabolismo para la termogénesis y mantenimiento homeostático, del mismo modo Dwyer and Morgan (2006) relacionan el peso al nacimiento con la temperatura rectal en crías de oveja. Evidencias entre el gen UCP3 y actividad termogénica al nacimiento no han sido reportadas. La familia de genes UCP está altamente ligada con la distribución de energía y características productivas relacionadas, incluidas: pesos corporal, distribución de tejido graso (blanco y marrón) en el cuerpo, metabolismo energético, eficiencia alimenticia, entre otros (Boss et al., 2000; Taga et al., 2011; Zhang et al., 2011).

#### **6.5. Gen DGAT (Diacilglicerol Transferasa)**

QTL's para rasgos de marmoleo y GD los cuales son considerados de importancia económica en ganado cárnico han sido localizados en regiones del BTA 14 (Mizoshita et al., 2004). La investigación desarrollada por Souza et al. (2010) en ganado Nelore (n=357) donde se tomaron medidas para PN, GD y GCA. Los resultados indican una tendencia a asociación para PN, mientras que otras características medidas no se observó una influencia del polimorfismo debido a la baja frecuencia de los genotipos. En la presente investigación se encontró asociación significativa en PN y GD así como GCA. En un



estudio desarrollado por Thaller et al. (2003) en dos razas de bovinos, Holstein Alemán (n=28) y Charolais (n=27) de distintos orígenes, se investiga el efecto del gen DGAT1 sobre mediciones de contenido graso en músculos semitendinosos y contenido graso en m. longissimus dorsi después del sacrificio, resultando en una asociación significativa con características de deposición de grasa. Coincidiendo con Wu et al. (2005) en ganado bovino de la raza Wagyu donde se asocia a grasa subcutánea. La enzima DGAT interviene directamente en el síntesis de triglicéridos (Grisart et al., 2002; Winter et al., 2002), así mismo en un estudio en ratones infectados con un adenovirus para la transfección del gen DGAT1, los resultados mostraron sobreexpresión del gen y por lo tanto un incremento en deposición grasa en el área gonadal debido al aumento en circulación de lipoproteínas de muy baja densidad, lo cual puede desencadenar obesidad (Yamazaki et al., 2005).

#### **6.6. Gen LEP (Leptina)**

El BTA 04 ha sido estudiado para detectar QTL's para rasgos productivos, incluidos de puntaje de marmoleo (Mizoshita et al., 2004). Kononoff et al. (2005) analizaron 1,435 canales de novillos para consumo y 142 canales de vaquillas para consumo, predominantemente Bos Taurus Europeo o Británico en búsqueda asociaciones entre el polimorfismo para LEP y características de importancia económica. Los resultados de ese estudio demuestran una asociación significativa del polimorfismo con marmoleo (calidad de la canal). En el presente trabajo esta característica resultó con una asociación significativa. Del mismo modo un estudio presentado por Souza et al. (2010) donde se analizan otros polimorfismos de LEP basado en bos indicus de raza Nelore (n=357). Los resultados indican que presentan efectos significativos en las mediciones de deposición grasa (grasa dorsal). La leptina se encuentra predominantemente en el adipocito, sin embargo es secretada al torrente sanguíneo y esta tiene efecto en gran cantidad de tejidos periféricos y el cerebro (Hausman et al., 2009), animales tratados (central o sistémicamente) con inyecciones de leptina experimentan reducción en la ingesta, remoción de depósitos grasos, pérdida de peso y un incremento en el metabolismo energético, además se sabe que en ratones y humanos en condición magra, la leptina circula de manera conjugada (Houseknecht et al., 1998).

#### **6.7. Gen TG (Tiroglobulina)**

Regiones del BTA 14 han sido reportadas con QTL's para rasgos de importancia económica en ganado cárnico, incluidas las características AOL, CPYG (Macneil and

Grosz, 2002), peso de la canal al sacrificio (Kim et al., 2003), peso al nacimiento (Peters et al., 2012), Peso vivo a los 9 meses, peso vivo antes del sacrificio, marmoleo y GD (Mizoshita et al., 2004).

En el estudio desarrollado por Gan et al. (2008) basado en distintas razas de bos indicus y bos Taurus una variedad de SNP's para el gen TG. Los resultados señalan asociaciones significativas con características de crecimiento (Peso vivo y peso de la canal), características de calidad de la canal (AOL) y deposición grasa (Marm y GD). En el presente estudio se encontró asociación con rasgos de calidad de la canal (AOL) y deposición grasa (Marm y GD). En la investigación desarrollada por Thaller et al. (2003) en dos razas de bovinos, Holstein Alemán (n=28) y Charolais (n=27) de distintos orígenes, investiga el efecto del gen TG sobre mediciones después de sacrificio, incluidas: contenido graso en músculos semitendinosos y contenido graso en m. longissimus dorsi. Los resultados una asociación significativa entre las mediciones y el SNP propuesto. Así mismo el trabajo publicado por Wood et al. (2006) se analizan los resultados de 14 publicaciones de distintos grupos de investigación disponibles hasta ese momento, por medio del método estadístico Bayesiano jerárquico para el polimorfismo propuesto, resultando en una asociación significativa con la medición de marmoleo. La tiroglobulina como precursor de las hormonas tiroideas están estrechamente relacionadas con el metabolismo de los depósitos grasos, desarrollo y su mantenimiento (Casas et al., 2005); por lo tanto se sabe que afectan también a otros depósitos grasos como grasa subcutánea y el porcentaje de grasa en tejidos en general, ya que las yodotironinas afectan la diferenciación de los adipocitos (Fortes et al., 2010). El gen de la tiroglobulina es ampliamente utilizado para MAS y comercialmente a través de kits comerciales (Van Eenennaam et al., 2007) de detección para mejorar características de calidad de la canal y deposición grasa en distintos países con hatos de producción cárnica importantes (Shin et al., 2007).

#### **6.8. Gen CAPN (Calpaina)**

En el experimento de d-PCR y análisis de discriminación alélica determinó el apareamiento exitoso de las sondas fluoróforas de los marcadores moleculares, demostrando que los polimorfismos identificado como CAPN1 SNP1 y CAPN SNP2 (Tabla 1) se encuentran en la población estudiada. Sin embargo, no existen mediciones complementarias en este estudio pues la mayoría de estas mediciones son al sacrificio del

individuo, debido a que estos animales experimentales son candidatos a sementales y vientres de remplazo no se puede realizar la colección de estos datos.

#### **6.9. Gen CAST (Calpastatina)**

En el experimento de d-PCR y análisis de discriminación alélica determinó el apareamiento exitoso de las sondas fluoróforas de los marcadores moleculares, demostrando que los polimorfismos identificado como SNP1 y SNP2 para el gen CAST (Tabla 1) se encuentran en la población estudiada. Sin embargo, no existen mediciones complementarias en este estudio pues la mayoría de estas mediciones son al sacrificio del individuo, al ser estos animales experimentales candidatos a sementales y vientres de remplazo no se puede realizar la toma de estas mediciones.

## **7. CONCLUSIONES**

Integrar a los individuos al modelo de grupos contemporáneos, tiene un efecto directo en la obtención, ajuste y análisis de los valores productivos, EPD's y mediciones por medio de ultrasonido; facilitando el agrupamiento de los datos y el análisis de los mismos.

Ambas razas, Simmental y Simbrah, se comportan estadísticamente igual.

La utilización del chip de microarreglo, excitación de sondas fluoróforas y discriminación alélica, son efectivas para la detección de mutaciones en marcadores moleculares.

El modelo estadístico lineal univariado permite la asociación de SNP's propuestos con rasgos de importancia económica y productiva, en ganado de doble propósito.

Los marcadores moleculares SNP propuestos se encuentran en la población Simmental y Simbrah estudiadas.

## 8. LITERATURA CITADA

1. Ailhaud, G., Grimaldi, P., and Négrel, R. 1992. Cellular and Molecular Aspects of Adipose Tissue Development. **Annual Review of Nutrition**. 12. 207- 233.
2. **Andersson, L.** 2001. Genetic dissection of phenotypic diversity in farm animals. *Nature Reviews, Genetics*. 2, 130-138.
3. **Andersson, L., Georges, M.** 2004. Domestic-Animal Genomics: Deciphering The Genetics Of Complex Traits, *Nature Reviews, Genetic*. 5, 202 – 212
4. **Applied Biosystems.** 2001. Allelic Discrimination Using the 5'Nuclease Assay, USA. 2001.
5. **Axygen Biosciences.** 2011. AxyPrep Blood Genomic DNA Miniperp Kit, USA. 2011.
6. **Baruch, E., Weller, J.I.** 2009. Incorporation of genotype effects into animal model evaluations when only a small fraction of the population has been genotyped. *Animal*. 3, 16-23.
7. **Barton, N.H., Keightley, P.D.** 2002. Understanding Quantitative Genetic Variation. *Nature Reviews, Genetics*. 3, 11-21
8. **Bauer, M.K., Harding, J.E., Bassett, N.S., Breier, B.H., Oliver, M.H., Gallaher, B.H., Evans, P.C., Woodall, S.M., Gluckman, P.D.** 1998. Fetal growth and placental function. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 140. 115–120.
9. **Bhat, S., Herrmann, J., Armishaw, P., Corbisier, P., Emslie K.R.** 2009. Single molecule detection in nanofluidic digital array enables accurate measurement of DNA copy number. *Anal Bioanal Chem*. 394, 457–467.
10. **Bahar, B., Sweeney T.** 2008. Mapping of the transcription start site (TSS) and identification of SNPs in the bovine neuropeptide Y (NPY) gene. *BioMed Central, Genetics*. 9. 91.
11. **Beef Improvement Federation (BIF).** 2010. Guidelines for Uniform Beef Improvement Programs. 9th Edition. North Carolina USA.
12. **Bergen, R., Miller, S.P., Wilton, J.W.** 2005, Genetic correlations among indicator traits for carcass composition measured in yearling beef bulls and finished feedlot steers., *Canadian Journal Of Animal Science*. 85, 463- 473.
13. **Boligon, A. A., Silva, J. A. V., Sesana, R. C., Sesana, J. C., Junqueira, J. B. and Albuquerque, L. G.** 2010. Estimation of genetic parameters for body weights, scrotal circumference, and testicular volume measured at different ages in Nellore cattle. *Journal of Animal Science*. 88. 1215-1219.

14. **Boss, O., Hagen, T., and Lowell, B. B.** 2000. Perspectives in Diabetes Uncoupling Proteins 2 and 3: Potential Regulators of Mitochondrial Energy Metabolism. *DIABETES*. 49, 143- 156
15. **Brandenberg, O., Dhloamin, Z., Sens, A., Ghosh K., and Sonnino, A.** 2011. Introduction to Molecular Biology and Genetic Engineering. FAO Biosafety Resource Book, Rome Italy. 1-146.
16. **Breier, B. H., Oliver, M.H., Gallaher, B. W.** 2000. Regulation of growth and Metabolism During Postnatal Development. Pages 187–204 in Cronjé, P., Boomker, E. A., ed. *Ruminant Physiology: Digestion, Metabolism, Growth and Reproduction*. Ferdinand Enke CABI Publishing, New York, NY, USA.
17. **Brink, J.T.** 2006. Satisfying the 21st Century Beef Consumer: A Cattle Feeder's Perspective. Beef Improvement Federation the 38th Annual Meeting and Research, Mississippi, USA. 1-4
18. **Buchanan, F. C., Fitzsimmons, C.J., Van Kessel, A.G., Thue, T.D., Winkelmann-Sim, D. C., Schmutz, S.M.** 2002. Association of a missense mutation in the bovine leptin gene with carcass fat content and leptin mRNA levels. *Genetics Selection Evolution*. 34. 105-116.
19. **Carruthers, C. R., Plante, Y., Schmutz, S.M.** 2011. Comparison of Angus cattle populations using gene variants and microsatellites. *Canadian Journal Of Animal Science*. 91. 81-85.
20. **Casas, E., White, S. N., Riley, D. G., Smith, T. P. L., Brenneman, R. A., Olson, T. A., Johnson, D. D., Coleman, S. W., Bennett, G. L. and Chase, Jr., C. C.** 2005. Assessment of single nucleotide polymorphisms in genes residing on chromosomes 14 and 29 for association with carcass composition traits in *Bos indicus* cattle. *Journal of Animal Science*. 83.13-19.
21. **Casas, E., White, S. N., Wheeler, T. L., Shackelford, S. D., Koohmaraie, M., Riley, D. G., Chase, Jr. C. C., Johnson, D. D. and Smith, T. P. L.** 2006. Effects of calpastatin and  $\alpha$ -calpain markers in beef cattle on tenderness traits. *Journal of Animal Science*. 84. 520-525.
22. **Casas, E., White, S. N., Shackelford, S. D., Wheeler, T. L., Koohmaraie, M., Bennett, G. L. and Smith, T. P. L.** 2007. Assessing the association of single nucleotide polymorphisms at the thyroglobulin gene with carcass traits in beef cattle. *Journal of Animal Science*. 85. 2807-2814.

23. **Castagnino, J.M.** 2006. Nanotecnología, Microchips y Microarreglos. *Acta Bioquím Clín Latinoam.* 40. 161-163
24. **Chagas, L. M., J. J. Bass, D. Blache, C. R. Burke, J. K. Kay, D. R. Lindsay, M. C. Lucy, G. B. Martin, S. Meier, F. M. Rhodes, J.R. Roche, W. W. Thatcher, and R. Webb.** 2007. Invited review: New perspectives on the roles of nutrition and metabolic priorities in the subfertility of high-producing dairy cows. *Journal Dairy Sciences.* 90:4022
25. **Chang, H. W. and Shih I.M.** 2004. Digital Single-Nucleotide polymorphism analysis for allelic imbalance. In *Methods in Molecular Medicine: Pancreatic Cancer* (volume: 103). Edited by G. H. Su, Humana Press, Totowa, NJ, USA, ISBN: 1-58829-107-3. pp 137-142
26. **Cheong, H. S., Yoon, D., Kim, L.H., Park, B.L., Choi,Y. H., Chung,E. R., Cho, Y. M., Park, E. W., Cheong, I, Oh,S., Yi,S., Park, T. and Shin, H. D.** 2006. Growth hormone-releasing hormone (GHRH) polymorphisms associated with carcass traits of meat in Korean cattle. *BioMed Central, Genetics.* 7. 35
27. **Connor, E. E., Barao, S. M., Douglass, L. W., Zinn S. A. and Dahl, G. E.** 1999. Predicting bull growth performance and carcass composition from growth hormone response to growth hormone-releasing hormone. *Journal of Animal Science.* 77. 2736-2741.
28. **Connor, E. E., Barao, S. M., Russek-Cohen, E. and Dahl, G. E.** 2000. A two-sample method for assessing growth hormone response to growth hormone-releasing hormone challenge: use as a predictor of gain in beef bulls. *Journal of Animal Science.* 78. 1954-1959.
29. **Consejo Nacional de los Recursos Genéticos Pecuarios A.C.** 2011. Sumario de Sementales Invierno. México DF. México.
30. **Curi,R. A., Palmieri, D. A., Sugisawa, L., de Oliveira, H. N., Silveira,A. C. and Lopes, C. R.** 2006. Growth and carcass traits associated with GH1/Alu I and POU1F1/Hinf I gene polymorphisms in Zebu and crossbred beef cattle. *Genetics and Molecular Biology.* 29. 56-61.
31. **Dekkers, J.C.M.** 2005. Implementation of marker assisted selection into breeding programs. 4th European Poultry Genetics Symposium, Croatia. 1-9
32. **Dekkers, J.C.M.** 2004. Commercial application of marker- and gene-assisted selection in livestock: Strategies and lessons. *Journal of Animal Science.* 82. E313-E328.

33. **Dekkers, J.C.M., Hospital, F.** 2001. The use of molecular genetics in improvement of agricultural populations. *Nature Reviews Genetics*. 3. 22-32.
34. **Delavaud, C., Ferlay, A., Faulconnier, Y., Bocquier, F., Kann, G. and Chilliard, Y.** 2002. Plasma leptin concentration in adult cattle: effects of breed, adiposity, feeding level, and meal intake. *Journal of Animal Science*. 80. 1317-1328.
35. **De Graaff, L. C. G., Mulder, P. G. H., Hokken-Koelega, A. C. S.** 2003. Body proportions before and during growth hormone therapy in children with chronic renal failure. *Pediatric Nephrology*. 18. 679-684.
36. **Dickerson, G.E., Willham, R.L.** 1983. Quantitative Genetic Engineering of More Efficient Animal Production. *Journal of Animal Science*. 57. 248-264.
37. **Dickerson, G.E., Hazel, L.N.** 1944. Selection for Growth Rate of Pigs and Productivity of Sows. *Journal of Animal Science*. 3. 201-212.
38. **Domínguez-Viveros, J.** 2010. . Guía técnica de programas de control de producción y mejoramiento genético en bovinos carne. Consejo Nacional de los Recursos Genéticos Pecuarios A.C., México DF. México. 3-15.
39. **Dwyer C. M. and Morgan, C. A.** 2006. Maintenance of body temperature in the neonatal lamb: Effects of breed, birth weight, and litter size. *Journal of Animal Science* 84. 1093-1101.
40. **Etherton, T. D.** 2004. Somatotrophic function: The somatomedin hypothesis revisited. *Journal of Animal Science*. 82. Supplement. 239–244.
41. **FAO.** 1996. World livestock production systems. Current status issues and trends, Edited by Sere, C., Steinfeld, H., Groenewold, J., *Animal Production and Health Paper*. No. 127
42. **FAO.** 2007. The State of the World's Animal Genetic Resources for Food and Agriculture, edited by Rischkowsky B., Dafydd-Pilling, B.
43. **Finch, V.A.** 1986. Body temperature in beef cattle: its control and relevance to production in the tropics. *Journal of Animal Science*. 62. 531-542.
44. **Fortes, M. R. S., Curi, R. A., Chardulo, L. A. L., Silveira, A. C., Assumpção, M. E. O. D., Visintin, J. A. and de Oliveira, H. N.** 2010. Bovine gene polymorphisms related to fat deposition and meat tenderness. *Genetics and Molecular Biology*. 32. 75-82.
45. **Franco M.M., Antunes R. C., Silva H. D., Goulart L. R.** 2005. Association of PIT1 and GHRH polymorphism with performance and carcass traits in Landrace pigs. *Journal of Applied Genetics*. 46. 2. 195-200.



46. Gan, Q.F., Zhang, L.P., Li, J. Y., Hou, G. Y., Li, H. D., Gao, X., Ren, H. Y., Chen, J.B., Xu, S. Z., 2008. Association analysis of thyroglobulin gene variants with carcass and meat quality traits in beef cattle. *Journal of Applied Genetics*. 49.251ed Ge
47. **Garrett, A. J., Rincon, G., Medrano, J. F., Elzo, M. A., Silver, G. A. and Thomas, M. G.** 2008. Promoter region of the bovine growth hormone receptor gene: Single nucleotide polymorphism discovery in cattle and association with performance in Brangus bulls. *Journal of Animal Science*. 8. 3315-3323
48. **Garrick, D.J.** 2013. Bad news: they're all carriers of something – broken genes in the beef business. *Proceedings of the Beef Improvement Federation's 45th Annual Research Symposium and Annual Meeting*. pp 85-92
49. **Garrick, D.J.** 2011. The Nature, Scope and Impact of Genomic Prediction in Beef Cattle in the United States. *Genetics Selection Evolution* 2011, Vol.4. pp 1-11
50. **Garrick, D.J. and Golden, B.L.** 2009. Producing and using genetic evaluations in the United States beef industry of today. *Journal of Animal Science*. 87. E11-E18.
51. **Geary, T. W., McFadin, E. L., MacNeil, M. D., Grings, E. E., Short, R. E., Funston, R. N. and Keisler, D. H.** 2003. Leptin as a predictor of carcass composition in beef cattle. *Journal of Animal Science*. 81. 1-8.
52. **Georges, M.** 2006. Animal breeding in the genomics era. 24th World Buiatrics Congress, Nice, France. pp. 10-20.
53. **Georges, M., Nielsen, D., Mackinnon, M., Mishra, A., Okimoto, R., Pasquino, A.T., Sargeant, L.S., Sorensen, A., Steele, M.R., Zhao, X., Womacj, J.E., Hoeschele, I.** 1995. Mapping Quantitative Trait Loci Controlling Milk Production in Dairy Cattle by Exploiting Progeny Testing. *Genetics Society of America*. 139:2. 907-920
54. **Giovambattista, G., Rogberg-Muñoz A., Ripoli, M.V., Villegas-Castagnasso E. E., Díaz, S., Posik, D. M., Lirón, J.P., Carino, M.H., Goszczynski, D. E., Fernández, M.E., Peral- García, P.** 2010. La genética molecular de bovinos y equinos criollos en los albores del siglo XXI. *Journal of Basic and Applied Genetics*. 21. 1- 14.
55. **Glenn, T.C., Schable, N.A.** 2005. Isolating microsatellite DNA loci. *Methods in Enzymology*. 395. 202-222.
56. **Gluckman, P.D.** 1997. Endocrine and nutritional regulation of prenatal growth. *Scandinavian University Press. Acta paediatrica supplement*. 423. 153-157.
57. **Gomes, R.C., Silva, S.L., Carvalho, M.E., Rezende, F.M., Pinto, L.F.B., Santana, M.H.A., Stella, T.R., Meirelles, F.V., Rossi-Júnior, P., Leme, P.R. and Ferraz,**

- J.B.S.** 2013. Protein synthesis and degradation gene SNPs related to feed intake, feed efficiency, growth, and ultrasound carcass traits in Nellore cattle. *Genetics and Molecular Research*. 12. 2923-2936
- 58. Grisart, B., Coppieters, W., Farnir, F., Karim, L., Ford, Ch., Berzi, P., Cambisano, N., Mni, M., Reid S., Simon P., Spelman, R., Georges, M., and Snell, R.** 2002. Positional Candidate Cloning of a QTL in Dairy Cattle: Identification of a Missense Mutation in the Bovine DGAT1 Gene with Major Effect on Milk Yield and Composition. Cold Spring Harbor Laboratory Press, *Genome Research*.12. 222- 231
  - 59. Grisart,B., Farnir, F., Karim,L., Cambisano, N., Kim, J., Kvasz, A., Mni, M., Simon, P., Frere, J., Coppieters, W., and Georges, M.** 2004. Genetic and functional confirmation of the causality of the DGAT1 K232A quantitative trait nucleotide in affecting milk yield and composition. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 101.2398–2403.
  - 60. Han, R., Li, A., Li, L., Kitlinska, J. B., and Zukowska, Z.** 2012. Maternal low-protein diet up-regulates the neuropeptide Y system in visceral fat and leads to abdominal obesity and glucose intolerance in a sex- and time-specific manner. *Journal of the federation of american societies for experimental biology*.Research communication 1-9.
  - 61. Hansen, M. P., Van Zandt, J. N., Law, G.R.J.** 1967. Differences in Susceptibility to Marek's Disease in Chickens Carrying Two Different B Locus Blood Group Alleles. *Poultry Sci*. 46. 1268.
  - 62. Harris, D.L., Lofgren, D.L., Stewart, T.S. and Schinckel, A.P.** 1989. Adapting Best Linear Unbiased Prediction (BLUP) for Timely Genetic Evaluation: I. Progeny Traits in a Single Contemporary Group for Each Sex. *Journal of Animal Science*. 67. 3209-3222.
  - 63. Harris, D.L., Newman, S.** 1994. Breeding for profit: synergism between genetic improvement and livestock production (a review). *Journal of Animal Science*. 72. 2178-2200.
  - 64. Harris, D.L.** 1998. Livestock improvement: art, science, or industry?. *Journal of Animal Science*. 76. 2294-2302.
  - 65. Hausman, G. J., Dodson, M. V., Ajuwon, K., Azain, M., Barnes, K. M., Guan, L. L., Jiang, Z., Poulos, S. P., Sainz, R. D., Smith, S., Spurlock, M., Novakofski, J., Fernyhough, M. E. and Bergen, W. G.** 2009. BOARD-INVITED REVIEW: The

- biology and regulation of preadipocytes and adipocytes in meat animals. *Journal of Animal Science*. 87. 1218-1246.
66. **Heid, C.A., Stevens J., Livak, K.J., Williams, M.** 1996. Real Time Quantitative PCR. *Genome Research*. 6. 986-994
  67. **Herring, W.O., Bertrand, J.K.** 2002. Multi-train prediction of feed conversion in feedlot cattle. *Proceedings of the Beef Improvement Federation's 34th Annual Research Symposium and Annual Meeting*.
  68. **Hill, W.G., Robertson, A.** 1966. The effect of linkage on limits to artificial selection. *Genetical Research*. 8. 269-294
  69. **Hirwa, C.A., Wallace, P., Shen, X., Nie, Q., Yang G., Zhang, X.** 2011. Genes Related to Economically Important Traits in Beef Cattle. *Asian Journal of Animal Sciences*. 5. 34-45.
  70. **Hou, G.Y., Yuan, Z.R., Zhou, H.L., Zhang, L.P., Li, J.Y., Gao, X., Wang, D.J., Gao, H.J., Xu, S.Z.** 2011. Association of thyroglobulin gene variants with carcass and meat quality traits in beef cattle. *Molecular Biology Reports*. 38. 4705-4708.
  71. **Houghton, P.L. and L.M. Turlington.** 1992. Application of ultrasound for feeding and finishing animals: a review. *Journal of Animal Science*. 70. 930-941.
  72. **Houseknecht, K. L., Baile, C. A., Matteri, R. L., and Spurlock, M. E.** 1998. The biology of leptin: a review. *Journal of Animal Science*. 76. 1405-1420.
  73. **Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI).** 2007. VIII Censo Agropecuario. México DF. México.
  74. **Karp G.** 2006. *Biología Celular y Molecular: Conceptos y Experimentos*. 4<sup>a</sup> ed. México: Mac Graw-Hill Interamericana, corp.
  75. **Kim, J. J., Farnir, F., Savell, J. and Taylor, J. F.** 2003. Detection of quantitative trait loci for growth and beef carcass fatness traits in a cross between *Bos taurus* (Angus) and *Bos indicus* (Brahman) cattle. *Journal of Animal Science*. 81. 1933-1942.
  76. **Kluyts, J.F., Neser, F.W.C., Bradfield, M. J.** 2003. Review Article: Development of breeding objectives for beef cattle breeding: Derivation of economic values. *South African Journal of Animal Science*. 33. 141-158
  77. **Knapp, B. Jr., Phillips, R.W., Black, W.H., Clark, R.T.** 1942. Length of Feeding Period and Number of Animals Required To Measure Economy Of Gain In Progeny Tests Of Beef Bulls. *Journal of Animal Science*. 1. 285-292.
  78. **Knapp, B. Jr., Black, W.H., Phillips, R.W.** 1939. A Study of the Accuracy of Scoring Certain Characters in Beef Cattle. *Journal of Animal Science*. 1. 122-124.

79. **Kononoff, P. J., Deobald, H. M., Stewart, E. L., Laycock, A. D. and Marquess, F. L. S.** 2005. The effect of a leptin single nucleotide polymorphism on quality grade, yield grade, and carcass weight of beef cattle. *Journal of Animal Science*. 83. 927-932.
80. **Kubista, M., Stahlberg, A.** 2011. DNA diagnostics gets digitized. *Drug Discovery*. 2.77 – 82.
81. **La Ganadería Mexicana 2010.** 2010. Revista Ganadero S.A de C.V., Editado por Ocampo-Trujillo, J. C. 1- 160
82. **Lin-Su, K., Wajnrajch, M. P.** 2002. Growth Hormone Releasing Hormone (GHRH) and the GHRH Receptor. Kluwer Academic Publishers, *Reviews in Endocrine & Metabolic Disorders*. 3. 313–323.
83. **Lohuis M.M.,** 2003. Industry Use of Marker-Assisted Selection. Monsanto Company, St. Louis, Missouri.
84. **Luna-Nevarez, P., Rincon, G., Medrano, J. F., Riley, D. G., Chase, C. C., Coleman, S. W., Jr., VanLeeuwen, D. M., DeAtley, K. L., Islas-Trejo, A., Silver, G. A. and Thomas, M. G.** 2011. Single nucleotide polymorphisms in the growth hormone-insulin-like growth factor axis in straightbred and crossbred Angus, Brahman, and Romosinuano heifers: Population genetic analyses and association of genotypes with reproductive phenotypes. *Journal of Animal Science*. 89. 926-934.
85. **Lush, J.L.** 1947a. Family merit and individual merit as basis for selection. Part I. *American Naturalist*. 81. 241.
86. **Lush, J.L.** 1947b. Family merit and individual merit as basis for selection. Part II. *American Naturalist*. 81:362
87. **MacNeil, M.D.,** 2009. Invited Review: Research contributions from seventy-five years of breeding Line 1 Hereford cattle at Miles City, Montana. *Journal of Animal Science*. 87. 2489-2501.
88. **MacNeil, M.D., Grosz, M. D.** 2002. Genome-wide scans for QTL affecting carcass traits in Hereford × composite double backcross populations. *Journal of Animal Science*. 80. 2316–2324.
89. **Marlowe T. J.,** 1964. Evidence of Selection for the Snorter Dwarf Gene in Cattle *Journal of Animal Science*. 23. 454-460.
90. **Matukumalli, L.M, Lawley, C.T., Schnabel, R.D., Taylor, J.F., Allan, M.F., Heaton, M. P., O'Connell, J., Moore, S.S., Smith, T.P.L., Sonstegard, T.S., Van Tassell, C.P.** 2009. Development and Characterization of a High Density SNP Genotyping Assay for Cattle. *PLoS ONE*. 4. e5350. 1-10

91. **Medina-Chapa, J.M.** 2010. Introducción: Sumario de Sementales Simmental-Simbrah Invierno 2010. Asociación Mexicana Simmental- Simbrah. 1-119
92. **McCaughan, F., Dear, P.H.** 2010. Invited Review: Single-molecule genomics. *Journal of Pathology*. 220. 297–306.
93. **McDanel, T. G., Nielsen, M. K. and Miner, J. L.** 2002. Uncoupling proteins and energy expenditure in mice divergently selected for heat loss. *Journal of Animal Science*. 80. 602-608.
94. **McPeck, M.S., Wu, X., Ober, C.** 2004. Best Linear Unbiased Allele-Frequency Estimation in Complex Pedigrees., *Journal of Biometrics*. 60. 359–367.
95. **Mikeska, T., Candiloro, I.L.M., Dobrovic, A.** 2010. Review: The implications of heterogeneous DNA methylation for the accurate quantification of methylation. *Epigenomics*. 2. 561–573.
96. **Miller, S.A., Dykes, D.D., Polesky, H.F.,** 1988. A simple salting out procedure for extracting DNA from human nucleated cells, *Nucleic Acids Research*. 16. 1215
97. **Mizoshita, K., Watanabe, T., Hayashi, H., Kubota, C., Yamakuchi, H., Todoroki, J., Sugimoto, Y.** 2004. Quantitative trait loci analysis for growth and carcass traits in a half-sib family of purebred Japanese Black (Wagyu) cattle. *Journal of Animal Science*. 82). 3415-3420.
98. **Montaño-Bermúdez, M., Martínez-Velázquez, G.** 2010. Guía técnica de programas de control de producción y mejoramiento genético de bovinos de carne. CONARGEN AC. Mexico, D.F.
99. **Moody, D. E.** 2001. Genomics techniques: An overview of methods for the study of gene expression. *Journal of Animal Science*. 79. E128-E135.
100. **Morris, C. A., Cullen, N. G., Hickey, S. M., Dobbie, P. M., Veenvliet, B. A., Manley, T. R., Pitchford, W. S., Kruk, Z. A., Bottema, C. D. and Wilson, T.** 2006. Genotypic effects of calpain 1 and calpastatin on the tenderness of cooked M. longissimus dorsi steaks from Jersey×Limousin, Angus and Hereford-cross cattle. *Animal Genetics*. 37. 411-4144.
101. **Mullis, K. B.** 1990. The Unusual Origin of The Polymerase Chain Reaction. *Scientific American*. 262. 56-61
102. **Newman, S.G.** 2011. The Role of Genetic Evaluation Technology in Enhancing Global Competitiveness, Beef Improvement Federation (BIF). The 43th Annual Meeting And Research Symposium. Montana, USA. 11-17

- 103.Osborne R. 1957.** The use of sire and dam family averages in increasing the efficiency of selective breeding under a hierarchical mating system. *Heredity*. 11. 93-116
- 104.Parra-Bracamonte G. M., Sifuentes-Rincon, A.M., De la Rosa-Reyna, X. F., Arellano-Vera, W. 2011.** Advances And Perspectives Of Genomics Biotechnology Applied To Livestock Production In Mexico. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*. 14. **1025-1037.**
- 105.Peel, D.S., Mathews, K.H. Jr., Johnson R.J. 2011.** Trade, the Expanding Mexican Beef Industry, and Feedlot and Stocker Cattle Production in Mexico / LDP-M-206-01 United States Department of Agriculture, Economic Research Service.
- 106.Peters, S. O., Kizilkaya, K., Garrick, D. J., Fernando, R. L., Reecy, J. M., Weaber, R. L., Silver, G. A. and Thomas, M. G. 2012.** Bayesian genome-wide association analysis of growth and yearling ultrasound measures of carcass traits in Brangus heifers. *Journal of Animal Science*. 90. 3398-3409.
- 107.Pinto L.F.B., Ferraz, J.B.S., Meirelles, F.V., Eler, J.P., Rezende, F.M., Carvalho, M.E., Almeida, H.B., Silva, R.C.G. 2010.** Association of SNPs on CAPN1 and CAST genes with tenderness in Nellore cattle., *Genetics and Molecular Research*, volume. 9. 1431- 1442.
- 108.Primrose, S.B., Twyman, R.M. 2006.** Principles of gene manipulation and genomics. John Wiley & Sons. Hoboken, New Jersey, USA. 644 pp
- 109.Pradervand, S., Weber, J., Lemoine, F., Consales, F., Paillusson, A., Dupasquier, M., Thomas, J., Richter, H., Kaessmann, H., Beaudoin, E., Hagenbuechle, O., Harshman, K. 2010.** Report: Concordance among digital gene expression, microarrays and qPCR when measuring differential expression of microRNAs. *BioTechniques*. 48. 219-222
- 110.Pohl, G., Shih, I-M. 2004.** Principle and Applications of digital PCR: a review. *Expert Review Of Molecular Diagnostics*. 4. 41-47.
- 111.Pollak, E.J., Kirschten, D. 2002.** Genetic Prediction Of Efficiency In The Future: A U.S. Perspective. *Proceedings of the Beef Improvement Federation's 34th Annual Research Symposium and Annual Meeting*.
- 112.Renaville, R., Hammadi, M., Portetelle, D. 2002.** Role of the somatotrophic axis in the mammalian metabolism. *Domestic Animal Endocrinology*. 23. 351–360

- 113.Rosales-Alday, J., Elzo, M.A., Montaña-Bermudez, M., Vega-Murillo, V.E.** 2004. Parámetros y tendencias genéticas para características de crecimiento predestete en la población mexicana de Simmental. *Técnica Pecuaria en Mexico*.4. 171-180.
- 114.Ríos-Utrera, A.,** 2010. Cap. 4: Evaluacion Genetica Nacional. Guia técnica de programas de control de producción y mejoramiento genético en bovinos Carne. Consejo Nacional de los Recursos Genéticos Pecuarios A.C. México DF. México. pp. 100
- 115.Ruiz-Lopez, F.J., Nunez-Dominguez, R.,** 2010. Guia técnica de programas de control de producción y mejoramiento genético en bovinos lecheros. Consejo Nacional de los Recursos Genéticos Pecuarios A.C. México DF. México. pp. 100.
- 116.Ryu, R., Kim, Y., Kim, Ch., Kim, J., Lee, Ch.** 2012. Association of bovine carcass phenotypes with genes in an adaptive thermogenesis pathway. *Molecular Biology Reports*. 39. 1441–1445.
- 117.Scarborough, R., Gulyas, J., Schally, A. V., and Reeves, J. J.** 1988. Analogs of growth hormone-releasing hormone induce release of growth hormone in the bovine. *Journal of Animal Science*. 66. 1386-1392.
- 118.Schrauwen, P. and Hesselink M.** 2002. Review: UCP2 and UCP3 in muscle controlling body metabolism. *The Journal of Experimental Biology*. 205. 2275–2285
- 119.Secretaria de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural (SAGAR).** 1998. Programa Nacional de Recursos Pecuarios. <http://www.sagarpa.gob.mx/ganaderia/Publicaciones/Lists/Otros/Attachments/2/conar gen.pdf>
- 120.Scholtz, M.M., Roux, C.Z., Schoeman, S.J.** 1990. An Investigation into the consequences of selection for growth, size and efficiency. *South African Journal of Science*. 20. 169-173.
- 121.Sellner, E.M., Kim, J.W., McClure, M.C., Taylor, K.H., Schnabel, R.D., Taylor, J.F.** 2007. Board-invited review: Applications of genomic information in livestock. *Journal of Animal Science*. 85. 3148-3158.
- 122.Shen, F., Du, W., Kreutz, J.E., Fok, A., Ismagilov, R. F.** 2010. Digital PCR on a SlipChip. *Lab Chip from The Royal Society of Chemistry*. 10. 2666-2672.
- 123.Sherman, E.L., Nkrumah, J.D., Murdoch, B.M., Li, C., Wang, Z., Fu, A., Moore, S.S.** 2008. Polimorphisms and haplotypes in the bovine NPY, GHR, GHRL, IGF2, UCP2 and UCP3 genes and their associations with measures of growth, performance, feed efficiency and carcass merit in beef cattle. *Journal of Animal Science*. 86.1-16.

- 124.Shin, S. C. and Chung, E. R.** 2007. Association of SNP Marker in the Thyroglobulin Gene with Carcass and Meat Quality Traits in Korean Cattle. *Asian Australian Journal of Animal Science*. 20. 172 – 177.
- 125.Smith, C., Banos, G.** 1991. Selection within and across populations in livestock improvement. *Journal of Animal Science*. 69. 2387-2394.
- 126.Smith S. B., Carstens G. E., Randel R. D., Mersmann H. J. and Lunt D. K.** 2004. Brown adipose tissue development and metabolism in ruminants. *Journal of Animal Science*. 82. 942-954.
- 127.Smitka, K., Papezova, H., Vondra, K., Hill, M., Hainer, V. and Nedvidkova, J.** 2013. The Role of “Mixed” Orexigenic and Anorexigenic Signals and Autoantibodies Reacting with Appetite-Regulating Neuropeptides and Peptides of the Adipose Tissue-Gut-Brain Axis: Relevance to Food Intake and Nutritional Status in Patients with Anorexia Nervosa and Bulimia Nervosa. *International Journal of Endocrinology*. 2013. 1- 21
- 128.Souza, F.R.P., Mercadante, M.E.Z., Fonseca, L.F.S., Ferreira, L.M.S., Regatieri, I.C., Ayres, D.R., Tonhati, H., Silva, S.L., Razook, A. G., Albuquerque, L.G.** 2010. Assessment of DGAT1 and LEP gene polymorphisms in three Nelore (*Bos indicus*) lines selected for growth and their relationship with growth and carcass traits. *Journal of Animal Science*. 88. 435-441.
- 129.Tagu, H., Bonnet, M., Picard, B., Zingaretti, M. C., Cassar-Malek, I., Cinti, S., and Chilliard, Y.** 2011. Adipocyte metabolism and cellularity are related to differences in adipose tissue maturity between Holstein and Charolais or Blond d'Aquitaine fetuses. *Journal of Animal Science*. 89. 711-721.
- 130.Tait, R.G. Jr., Wilson, D.E., Rouse, G.H.** 2005. Prediction of retail product and trimmable fat yields from the four primal cuts in beef cattle using ultrasound or carcass data. *Journal of Animal Science*. 83. 1353-1360.
- 131.Thaller, G., Krämer, W., Winter, A., Kaupe, B., Erhardt, G., Fries, R.** 2003. Effects of DGAT1 variants on milk production traits in German cattle breeds. *Journal of Animal Science*. 81. 1911-1918
- 132.Thaller, G., Kuehn, C., Winter, A., Ewald, G., Bellmann, O., Wegner, J., Zuehlke, H. and Fries, R.** 2003. DGAT1, a new positional and functional candidate gene for intramuscular fat deposition in cattle. Short communication. *International Society for Animal Genetics, Animal Genetics*. 34. 354–357



133. **Thallman, R.M.** 2004. DNA Testing and Marker Assisted Selection, Beef Improvement Federation (BIF) the 36th Annual Meeting and Research Symposium. Nebraska, USA. 20-25.
134. **Tiesjema, B., Adan, R. A. H., Luijendijk, M. C. M., Kalsbeek, A., and la Fleur, S. E.** 2007. Differential Effects of Recombinant Adeno-Associated Virus-Mediated Neuropeptide Y Overexpression in the Hypothalamic Paraventricular Nucleus and Lateral Hypothalamus on Feeding Behavior. *The Journal of Neuroscience*. 27. 14139 – 14146.
135. **Van Eenennaam, A. L., Li, J., Thallman, R. M., Quaas, R. L., Dikeman, M. E., Gill, C. A., Franke, D. E. and Thomas, M. G.** 2007. Validation of commercial DNA tests for quantitative beef quality traits. *Journal of Animal Science*. 85. 891-900.
136. **Vargas, C. A., Elzo, M. A., Chase, C. C., Jr and Olson, T. A.** 2000. Genetic parameters and relationships between hip height and weight in Brahman cattle. *Journal of Animal Science*. 78. 3045-3052.
137. **Vogelstein, B., Kinzler, K.W.** 1999. Digital PCR. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 96. 9236–9241.
138. **Waldner, D.N., Dikeman, M. E., Schalles, R.R., Olson, W.G., Houghton, P.L., Unruh, J. A., Corah, L.R.** 1992. Validation of real-time ultrasound technology for predicting fat thicknesses, longissimus muscle areas, and composition of Brangus bulls from 4 months to 2 years. *Journal of Animal Science*. 70. 3044-3054.
139. **Walsh, B., Henderson, D.** 2004. Microarrays and beyond: What potential do current and future genomics tools have for breeders? *Journal of Animal Science*. 82. E292-E299.
140. **Warwick, E.J.,** 1958. Fifty Years Of Progress In Breeding Beef Cattle. *Journal of Animal Science*. 17. 922-943.
141. **Watson, J.D.** 2008. *Molecular Biology of the gene* 6th Ed. Pearson- Benjamin Cummings, New Jersey, USA. 880 pp.
142. **White, S.N., Casas, E., Allan, M.F., Keele, J.W., Snelling, W.M., Wheeler, T.L., Shackelford, S.D., Koohmaraie, M., Smith, T.P.L.** 2007. Evaluation in beef cattle of six deoxyribonucleic acid markers developed for dairy traits reveals an osteopontin polymorphism associated with post weaning growth. *Journal of Animal Science*. 85. 1-10.
143. **White, S. N., Casas, E., Wheeler, T. L., Shackelford, S. D., Koohmaraie, M., Riley, D. G., Chase, C. C., Johnson, D. D. Jr., Keele, J. W. and Smith, T. P. L.**

2005. A new single nucleotide polymorphism in CAPN1 extends the current tenderness marker test to include cattle of *Bos indicus*, *Bos taurus*, and crossbred descent. *Journal of Animal Science*. 83. 2001-2008.
- 144.White, R. A., Blainey, P. C., Fan, H. C. and Quake, S. R.** 2009. Digital PCR provides sensitive and absolute calibration for high throughput sequencing. *BioMed Central, Genomics*. 10. 116
- 145.Wild, J.J.** 1950. The use of ultrasonic pulses for the measurement of biological tissues and the detection of tissue density changes. *Surgery Vol. 27* p.p.183
- 146.Williams, J.L., Dunner, S., Valentini, A., Mazza, R., Amarger, V., Checa, M.L., Crisa, A., Razzaq, N., Delourme, D., Grandjean, F., Marchitelli, C., Garcia, D., Perez-Gomez, R., Negrini, R., Ajmone-Marsan, P., Leveziel, H.** 2009. Discovery, characterization and validation of single nucleotide polymorphisms within 206 bovine genes that may be considered as candidate genes for beef production and quality. *Animal Genetics*. 40. 486–491.
- 147.Wilton, J.W., Van Vleck, L.D.** 1969. Sire Evaluation for Economic Merit. *Dairy Science*. 52. 235-239.
- 148.Wilton, J.W., Van Vleck, L.D.** 1968. Selection Of Dairy Cows For Economic Merit. *J. Dairy Science*. 51. 1680-1688.
- 149.Winter,A., Kraemer, W., Werner, F. A. O., Kollers,S., Kata, S., Durstewitz, G., Buitkamp, J., Womack, J. E., Thaller,G., and Fries, R.** 2002. Association of a lysine-232\_alanine polymorphism in a bovine gene encoding acyl-CoA:diacylglycerol acyltransferase (DGAT1) with variation at a quantitative trait locus for milk fat content. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 99. 9300-9305.
- 150.Wood, I. A., Moser, G., Brrell, D. L., Mengersen, K. l., Hetzel, D. J. S.** 2006. A meta-analytic assessment of a Thyroglobulin marker for marbling in beef cattle. *Genetic Selection Evolution*. 38. 479-494
- 151.Wu, X. L., MacNeil, M. D., De, S., Xiao, Q. J., Michal, J.J., Gaskins, C. T., Reeves, J. J, Busboom, J. R., Wright, Jr. R. W. and Jiang, Z.** 2005. Evaluation of candidate gene effects for beef backfat via Bayesian model selection. *Springer, Genetica*. 125. 103–113.
- 152.Yamazaki, T., Sasaki, E., Kakinuma, Ch., Yano, T., Miura, S. and Ezaki, E.** 2005. Increased Very Low Density Lipoprotein Secretion and Gonadal Fat Mass in Mice Overexpressing Liver DGAT1. *Journal Of Biological Chemistry*. 280. 21506–21514

- 153.Zhang, Z., Todhunter, R.J., Buckler, E.S. and Van Vleck. L.D.** 2006. Technical Note: Use of Marker Based Relationships with MTDFREML., *Journal of Animal Science*. 85. 881-885.
- 154.Zhang, L., Zhang, A.L., Zhang, L.Z., Zhang, Q., Zhang, C.L., Lan, X. Y., Chen, H.** 2011. Association analysis between variants in bovine NPY gene and growth traits in Nanyang cattle (*Bos tarus*). *General and Comparative Endocrinology*. 170. 189–192.
- 155.Zhang, B., Zhao, G., Lan, X., Lei, Ch., Zhang, Ch., Chen, H.** 2012. Polymorphism in GHRH gene and its association with growth traits in Chinese native cattle. *Research in Veterinary Science*. 92. 243–246.